



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

| | | |
|---|-----------|--|
| (51) 国際特許分類6 C07K 14/52, 16/24, C12N 15/19, 15/06, 5/08, 5/10, 5/20, C12P 21/02, 21/08, G01N 33/577 | A1 | (11) 国際公開番号 WO96/26217 (43) 国際公開日 1996年8月29日 (29.08.96) |
| (21) 国際出願番号 PCT/JP96/00374 (22) 国際出願日 1996年2月20日 (20.02.96) (30) 優先権データ 特願平7/54977 1995年2月20日 (20.02.95) JP 特願平7/207508 1995年7月21日 (21.07.95) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 雪印乳業株式会社 (SNOW BRAND MILK PRODUCTS CO., LTD.)[JP/JP] 〒065 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号 Hokkaido, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 後藤雅昭(GOTO, Masaaki)[JP/JP] 〒329-05 栃木県下都賀郡石橋町下古山456-1 Tochigi, (JP) 津田英資(TSUDA, Eisuke)[JP/JP] 〒329-05 栃木県下都賀郡石橋町石橋622 マロニエハイツ201 Tochigi, (JP) 望月伸一(MOCHIZUKI, Shin'ichi)[JP/JP] 〒329-04 栃木県河内郡南河内町緑5-22-6 Tochigi, (JP) 矢野和樹(YANO, Kazuki)[JP/JP] 〒329-05 栃木県下都賀郡石橋町石橋578-15 西浦ハイツ3-1 Tochigi, (JP) 小林文枝(KOBAYASHI, Fumie)[JP/JP] | | 島 伸行(SHIMA, Nobuyuki)[JP/JP] 〒329-04 栃木県河内郡南河内町緑4-17-5 Tochigi, (JP) 保田尚孝(YASUDA, Hisataka)[JP/JP] 〒329-04 栃木県河内郡南河内町緑2-3293-46 Tochigi, (JP) 中川信明(NAKAGAWA, Nobuaki)[JP/JP] 〒329-05 栃木県下都賀郡石橋町石橋578-15 西浦ハイツ2-4 Tochigi, (JP) 森永伴法(MORINAGA, Tomonori)[JP/JP] 〒321-02 栃木県下都賀郡壬生町幸町3-11-12 Tochigi, (JP) 上田正次(UEDA, Masatsugu)[JP/JP] 〒350-11 埼玉県川越市今福1672-1 メゾンむさし野719 Saitama, (JP) 東尾侃二(HIGASHIO, Kanji)[JP/JP] 〒350 埼玉県川越市山田1769-10 Saitama, (JP) (74) 代理人 弁理士 藤野清也, 外(FUJINO, Seiya et al.) 〒160 東京都新宿区四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AU, CA, CN, FI, HU, JP, KR, MX, NO, NZ, RU, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書 |
| (54) Title : NOVEL PROTEIN AND METHODS FOR THE PRODUCTION OF THE SAME (54) 発明の名称 新規蛋白質及びその製造方法 (57) Abstract A novel protein having the activity of suppressing the differentiation and/or maturation of osteoclasts and methods of the production of the same. This protein is produced from human fetal pulmonary fibroblasts and has a molecular weight of about 60 KD under reductive conditions or about 120 KD under nonreductive conditions. It can be isolated and purified from the culture medium of the above-mentioned cells. Alternatively, it can be produced by genetic engineering techniques. The invention also provides a cDNA for the genetic engineering production of the protein, an antibody showing an affinity specifically for the protein, and a method for assaying the protein with the use of this antibody. | | |

(57) 要約

破骨細胞の分化及び／又は成熟抑制活性のある蛋白質及びその製造法。

この蛋白質は、ヒト胎児肺線維芽細胞より産生され、還元条件下約60KD、非還元条件下約120KD の分子量をもつ。この蛋白質は該細胞の培養液から単離精製することができる。また、遺伝子工学的に製造することができる。

本発明では、遺伝子工学的に製造するためのcDNA、あるいはこの蛋白質と特異的親和性を示す抗体、この抗体を用いる蛋白質の測定方法も含まれる。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

| | | | | | | | |
|----|--------------|----|-----------------------|----|-----------|----|------------|
| AL | アルバニア | DE | ドイツ | LI | リヒテンシュタイン | PT | ポルトガル |
| AM | アルメニア | DK | デンマーク | LR | リベリア | RO | ルーマニア |
| AT | オーストリア | EE | エストニア | LS | レソト | RU | ロシア連邦 |
| AU | オーストラリア | FR | フランス | LT | リトアニア | SD | スーダン |
| AZ | アゼルバイジャン | GB | グレートブリテン及び北アイルランド連合王国 | LU | ルクセンブルグ | SG | シンガポール |
| BA | ボスニア・ヘルツェゴビナ | GG | ガボン | LV | ラトヴィア | SK | スロバキア |
| BB | バルバドス | GR | ギリシャ | MC | モナコ | SN | セネガル |
| BE | ベルギー | HN | ホンジュラス | MD | モルドバ共和国 | SS | ス威士ランド |
| BG | ブルガリア | HU | ハンガリー | MG | マダガスカル | ST | サントメ・プリンシペ |
| BJ | ベナン | IL | イスラエル | MK | マケドニア共和国 | TG | トーゴ |
| BY | ベラルーシ | IS | アイスランド | ML | マリ | TM | トルクメニスタン |
| CC | 中央アフリカ共和国 | IT | イタリア | MN | モンゴル | TR | トルコ |
| CF | コンゴ | JP | 日本 | MR | モーリタニア | TT | トリニダード・トバゴ |
| CG | コンゴ・ジボアール | KE | ケニア | MW | マラウイ | UA | ウクライナ |
| CH | スイス | KR | 大韓民国 | MX | メキシコ | UG | ウガンダ |
| CI | コート・ジボアール | KZ | カザフスタン | NE | ニジェール | UZ | ウズベキスタン |
| CM | カメルーン | | | NL | オランダ | VN | ベトナム |
| CN | 中国 | | | NO | ノルウェー | | |
| CU | キューバ | | | NZ | ニュージーランド | | |
| CZ | チェコ共和国 | | | | | | |

明 細 書

新規蛋白質及びその製造方法

技 術 分 野

本発明は、破骨細胞の分化及び／又は成熟を抑制する活性を示す新規な蛋白質、即ち破骨細胞形成抑制因子 (Osteoclastogenesis Inhibitory Factor; OCIF) 及びその製造方法に関する。

従 来 の 技 術

人の骨は絶えず吸収と再形成を繰り返しているが、この過程で中心的な働きをしている細胞が、骨形成を担当する骨芽細胞と骨吸収を担当する破骨細胞である。これらの細胞が担当している、骨代謝の異常により発生する疾患の代表として、骨粗鬆症が挙げられる。この疾患は、骨芽細胞による骨形成を、破骨細胞による骨吸収が上回ることにより発生する疾患である。この疾患の発生メカニズムについては未だ完全には解明されていないが、この疾患は骨の疼痛を発生し、骨の脆弱化による骨折の原因となる疾患である。高齢人口の増加に伴い、骨折による寝たきり老人の発生の原因となるこの疾患は社会問題にもなっており、その治療薬の開発が急務となっている。このような骨代謝異常による骨量減少症は骨吸収の抑制、骨形成の促進、或いはこれらのバランスの改善により治療することが期待される。

骨形成は、骨形成を担当する細胞の増殖、分化、活性化を促進すること、或いは骨吸収を担当する細胞の増殖、分化、活性化を抑制することにより促進することが期待される。近年、このような活性を有する生理活性蛋白質 (サイトカイン) への関心が高まり、精力的な研究が行われている。骨芽細胞の増殖或いは分化を促進するサイトカインとして、線維芽細胞増殖因子ファミリー (fibroblast growth factor ; FGF : Rodan S.B. et al., Endocrinology vol. 121, p1917, 1987)、インシュリン様増殖因子-I (insulin like growth factor-I ; IGF-I : Hock J.M.

et al., Endocrinology vol. 122, p254, 1988)、インシュリン様増殖因子-I (IGF-II : McCarthy T. et al., Endocrinology vol.124, p301, 1989)、アクチビンA (Activin A ; Centrella M. et al., Mol. Cell. Biol. vol. 11, p250, 1991)、トランスフォーミング増殖因子- β (transforming growth factor- β ; Noda M., The Bone, vol. 2, p29, 1988)、バスキュロトロピン (Vasculotropin ; Varonique M. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. vol.199, p380, 1994)、及び異所骨形成因子ファミリー(bone morphogenetic protein ; BMP : BMP-2 ; Yamaguchi, A et al., J. Cell Biol. vol. 113, p682, 1991, OP-1 ; Sampath T. K. et al., J. Biol. Chem. vol. 267, p20532, 1992、Knutsen R. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. vol.194, p1352, 1993)等のサイトカインが報告されている。

一方、破骨細胞形成、即ち破骨細胞の分化及び／又は成熟を抑制するサイトカインとしては、トランスフォーミング増殖因子- β (transforming growth factor- β ; Chenu C. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol.85, p5683, 1988)やインターロイキン-4 (interleukin-4; Kasano K. et al., Bone-Miner., vol. 21, p179, 1993)等が報告されている。又、破骨細胞による骨吸収を抑制するサイトカインとしては、カルシトニン(calcitonin ; Bone-Miner., vol.17, p347, 1992)、マクロファージコロニー刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor; Hattersley G. et al. J.Cell. Physiol. vol.137, p199, 1988)、インターロイキン-4(Watanabe, K. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. vol. 172, p1035, 1990)、及びインターフェロン- γ (interferon- γ ; Gowen M. et al., J. Bone Miner. Res., vol. 1, p469, 1986)等が報告されている。

これらのサイトカインは、その骨形成の促進や骨吸収の抑制作用による骨量減少症の改善剤となることが期待され、インシュリン様増殖因子-I や異所骨形成因子ファミリーのサイトカイン等、上記のサイトカインの一部については骨代謝改善剤として臨床試験が実施されている。又、カルシトニンは、骨粗鬆症の治療薬、疼痛軽減薬として既に市販されている。

現在、骨に関わる疾患の治療及び治療期間の短縮を図る医薬品として、臨床で

は活性型ビタミンD₃、カルシトニン及びその誘導体、エストラジオール等のホルモン製剤、イブリフラボン、ビタミンK₂（メナテトレノン）又はカルシウム製剤等が使用されている。しかし、これらの薬剤を用いた治療法はその効果並びに治療結果において必ずしも満足できるものではなく、これらに代わる新しい治療薬の開発が望まれていた。前述したように、骨代謝は骨形成と骨吸収のバランスによって調節されており、破骨細胞の分化・成熟を抑制するサイトカインは、骨粗鬆症等の骨量減少症の治療薬となることが期待される。

発明の開示

本発明はこのような観点からなされたものであって、新規な破骨細胞形成抑制因子（OCIF）及びその効率的な製造方法を提供することを課題とする。

本発明者らは、このような現状に鑑み鋭意探索の結果、ヒト胎児肺線維芽細胞IMR-90（ATCC寄託-受託番号CCL186）の培養液に破骨細胞形成抑制活性、即ち破骨細胞の分化・成熟を抑制する活性を有する蛋白質OCIFを見出すに至った。

又、細胞培養の担体としてアルミナセラミック片を使用すると本発明の破骨細胞形成抑制因子OCIFを培地中に高濃度に蓄積せしめ、効率よく精製できることを見出した。

さらに、本発明者らは、前記培養液をイオン交換カラム、アフィニティークラム及び逆相カラムで順次処理して吸着及び溶出をくり返すことによって前記蛋白質OCIFを効率よく精製する方法を確立した。

次に本発明者らは、得られた天然型OCIF蛋白質のアミノ酸配列の情報に基づき、この蛋白質をコードするcDNAのクローニングに成功した。さらに本発明者らは、このcDNAを用いて遺伝子工学的手法により破骨細胞の分化及び成熟抑制活性のある蛋白質を生産する方法を確立するに至った。

本発明は、ヒト胎児肺線維芽細胞に由来し、還元条件下SDS-PAGEにおける分子量が約60kD、非還元条件下SDS-PAGEにおける分子量が約60kD及び約120kDであり、陽イオン交換体及びヘパリンカラムに親和性を有し、70℃、

10分間又は56℃、30分間の加熱処理により破骨細胞の分化・成熟を抑制する活性が低下し、90℃、10分間の加熱処理により破骨細胞の分化・成熟抑制活性が失われることを特徴とする蛋白質に関する。本発明の蛋白質OCIFのアミノ酸配列は、既知の破骨細胞形成抑制因子とは明確に相違する。

また、本発明は、ヒト線維芽細胞を培養し、培養液をヘパリンカラム処理し、吸着画分を溶出し、この画分を陽イオン交換カラムにかけ吸着・溶出し、さらにアフィニティークラム、逆相カラムによって精製して前記蛋白質を採取する、蛋白質OCIFの製造方法に関する。本発明におけるカラム処理は、単に培養液等をヘパリンセファロースカラム等に流下させるものばかりではなく、バッチ法で培養液をヘパリンセファロース等と混合し、カラム処理した場合と同等の効果を奏するものも包含する。本発明で使用されるアフィニティークラムは、ヘパリンカラム及びブルーカラムが挙げられる。ブルーカラムは、特に好ましくはシバクロンブルーカラムが挙げられる。このシバクロンブルーカラムの充填剤としては、親水性合成高分子を担体とし色素シバクロンブルーF3GAを結合させたものが例示され、このカラムは通常ブルーカラムと呼ばれる。

さらに、本発明は、アルミナセラミック片を担体として使用して細胞培養を行なって効率よく前記蛋白質を製造する方法に関する。

本発明の蛋白質OCIFは、ヒト線維芽細胞の培養液から効率良く且つ高収率で単離精製することができる。この原料からの本発明蛋白質OCIFの単離、精製は、生物試料からの蛋白性物質の精製に汎用される通常の方法を用いて、目的とする蛋白質OCIFの物理的、化学的性質を利用した各種の精製操作に従い実施することができる。この濃縮手段として限外濾過、凍結乾燥、及び塩析等の通常の生化学的処理手段が挙げられる。又、精製手段としては、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、疎水クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、調製用電気泳動等を用いた通常の蛋白性物質の精製に利用される各種の手法を組み合わせる用いることができる。特に好ましくは、原料として用いるヒト線維芽細胞としてヒト胎児肺線維芽細胞IMR-90(ATCC-CCL 186)を用いることが望ましい。そして原料とな

るヒト胎児肺線維芽細胞 I M R - 90 の培養は、ヒト胎児肺線維芽細胞 I M R - 90 をアルミナセラミック片に付着させ、5 % ウシ新生児血清を添加した D M E M 培地を培養液として用い、ローラーボトル中で一週間から10日程度静置培養することにより得たものを使用するとよい。又、精製処理を実施する際に界面活性剤として0.1 % C H A P S (3-[(3-cholamidopropyl)-dimethylammonio]-1-propanesulfonate) を添加して精製を行うのが望ましい。

本発明の蛋白質 O C I F は、先ず培養液をヘパリンカラム（ヘパリンセファロース C L - 6 B、ファルマシア社）にかけ、2M NaCl を含む10mM Tris-HCl 緩衝液、pH7.5 で溶出させ、ヘパリン吸着性の O C I F 画分を得、この画分を Q ・ 陰イオン交換カラム（HiLoad-Q/FF、ファルマシア社）にかけ、その非吸着画分を集めることにより、ヘパリン吸着性で塩基性の O C I F 画分として得ることができる。得られた O C I F 活性画分は S ・ 陽イオン交換カラム（HiLoad-S/HP、ファルマシア社）、ヘパリンカラム（ヘパリン-5 P W、トーソー社）、シバクロンブルーカラム（ブルー-5PW、トーソー社）、逆相カラム（BU-300 C4、パーキンエルマー社）にかけることにより単離・精製することができ、この物質は前述した性質によって特定される。

さらに、本発明は、このようにして得られた天然型 O C I F 蛋白質のアミノ酸配列に基づいてこの蛋白質をコードする c D N A をクローニングし、この c D N A を用いて遺伝子工学的手法で破骨細胞の分化及び／又は成熟抑制活性のある蛋白質 O C I F を得る方法に関する。

即ち、本発明の方法に従って精製した O C I F 蛋白質をエンドプロテアーゼ（例えばリシルエンドペプチダーゼ）で処理後、生ずるペプチドのアミノ酸配列を決定し、得られた内部アミノ酸配列をコードし得るオリゴヌクレオチドの混合物を作製する。

次に、作製したオリゴヌクレオチド混合物をプライマーとし、P C R 法（好ましくは R T - P C R 法）を利用して O C I F c D N A 断片を取得する。この O C I F c D N A 断片をプローブとして、c D N A ライブラリーより O C I F の全長 c D N A をクローニングする。得られた O C I F c D N A を発現ベクターに挿入して O C I F 発現プラス

ミドを作製し、これを各種の細胞又は菌株に導入して発現させることにより、組み換え型OCIFを製造することができる。

本発明はまた、上述の活性を有する本発明OCIF蛋白質の類縁体（バリエーション）である新規蛋白質 OCIF2, OCIF3, OCIF4, OCIF5 に関する。

これらの類縁体は、IMR-90細胞のポリ(A)⁺RNAを用いて作成したcDNAライブラリーをOCIFcDNA断片をプローブとしてハイブリダイズすることによって得られる。これらのOCIF類縁体のcDNAを発現ベクターに挿入し、そのOCIF類縁体発現ベクターを通常の宿主で発現し、常法で精製することにより、目的とする類縁体蛋白質を得ることができる。

又、本発明はOCIF変異体に関する。

これらの変異体はOCIFの二量体形成に關与する可能性のあるCys 残基をSer 残基に置換したもの、又は天然型OCIFに欠失変異を導入したものである。PCR法或いは制限酵素による切断により、OCIFcDNAに置換或いは欠失変異を導入する。このcDNAを適当な発現プロモーターを有したベクターに挿入し、哺乳動物細胞等の真核細胞にトランスフェクトし、この細胞を培養してその培養液から常法により精製することにより、目的とするOCIF変異体を得られる。

又、本発明は抗OCIFポリクローナル抗体、及びそれを用いたOCIFの測定方法に関する。

抗OCIFポリクローナル抗体は、OCIFを免疫原として常法により作製される。この時用いる抗原（免疫原）としては、IMR-90培養液より得られる天然型OCIF、及びOCIFcDNAを用いて微生物や真核細胞を宿主として生産された遺伝子組み換え型OCIF、あるいはOCIFのアミノ酸配列に基づいて設計した合成ペプチドや、OCIFの加水分解部分ペプチドを用いることができる。これらの抗原を用いて、また必要ならば免疫アジュバントを併用して、適当な哺乳動物を免疫し、その血清から常法により精製することにより、抗OCIFポリクローナル抗体を得ることができる。得られた抗OCIFポリクローナル抗体をアイソトープや酵素で標識することにより、ラジオイムノアッセイ(RIA) やエンザイムイムノアッセイ(EIA) の測定系に使用することができる。この測定系を用い

ることにより、血液や腹水などの生体試料や細胞培養液などのOCIF濃度を容易に測定することができる。

又、本発明は抗OCIFモノクローナル抗体、及びそれを用いたOCIFの測定方法に関する。

抗OCIFモノクローナル抗体は、OCIFを免疫原として、常法により作成される。抗原としては、IMR-90培養液より得られる天然型OCIF、及びOCIFcDNAを用いて微生物や真核細胞を宿主として生産された遺伝子組み換え型OCIF、或いはOCIFのアミノ酸配列に基づいて設計した合成ペプチドや、OCIFの加水分解部分ペプチドでもよい。これらの抗原を用いて哺乳動物を免疫するか、或いはインビトロ法により免疫した細胞を、哺乳動物の骨髓腫細胞（ミエローマ）などと融合させハイブリドーマを作製し、このハイブリドーマよりOCIFを認識する抗体を産生するクローンを選択し、このクローンを培養することにより目的とする抗体が得られる。ハイブリドーマの作製にあたっては、哺乳動物を使用する場合、マウスやラットなどの小動物を使用した例が一般的である。免疫は、OCIFを生理食塩水などにより適当な濃度に希釈し、この溶液を静脈内や腹腔内に投与し、これに必要に応じて免疫アジュバントを併用投与し、動物に2-20日毎に2-5回投与する。このようにして免疫された動物を、解剖し、脾臓を摘出し脾細胞を免疫細胞として使用する。

免疫細胞と細胞融合させるマウス由来のミエローマとしては、例えばP3/x63-Ag8, p3-U1, NS-1, MPC-11, SP-2/0, F0, P3x63Ag8. 653, S194などが例示できる。また、ラット由来の細胞としてはR-210などの細胞株を例示できる。ヒト型の抗体を生産する場合にはヒトBリンパ球をインビトロ法により免疫し、ヒトミエローマ細胞やEBウイルスにより形質転換した細胞株を親株として使用することによりヒト型の抗体を生産するハイブリドーマを得ることができる。

免疫細胞とミエローマ細胞株の融合は公知の方法、例えばKoehlerとMilsteinらの方法（Koehler, G. et al. Nature vol. 256, 495-497, 1975）、或いは電気パルス法などが挙げられる。免疫細胞とミエローマ細胞株は、細胞培養に用いられている培地（FBS不含）に、通常行われている細胞数の比に混合し、ポリエ

チレングリコールを添加して融合処理を行い、HAT選択培地で培養を行い融合細胞を選択することができる。

抗OCIF抗体生産株を選別するには、ELISA法、ブランク法、オクタロニー法、凝集法など、通常の抗体検出に使用されている方法を用いて選択することができる。このようにして選別されたハイブリドーマは、通常の培養方法により継代培養可能であり、必要に応じて凍結保存できる。ハイブリドーマを常法により培養するか、または哺乳動物の腹腔内に移植することにより、抗体を生産することができる。抗体は塩析、ゲル濾過やアフィニティークロマトグラフィーなどの通常の方法により精製できる。

得られた抗体はOCIFに特異的に反応し、OCIFの測定や精製に使用できる。OCIFの測定に使用する場合は、抗体をアイソトープや酵素によりラベルすることにより、ラジオイムノアッセイ(RIA)やエンザイムイムノアッセイ(EIA)の測定系に使用することができる。特に本発明により得られる抗体は、その抗原認識部位がそれぞれ異なっているので、サンドイッチイムノアッセイに使用することができるという特徴を有する。この測定系を用いることにより、血液や腹水などの生体試料や細胞培養液などのOCIF濃度を容易に測定することができる。

OCIF活性は、久米川正好らの方法(蛋白質・核酸・酵素, Vol.34, p999 (1989))及びTakahashi N. et al.の方法(Endocrinology, Vol.122, p1373 (1988))に従い測定することができる。即ち、生後約17日のマウス骨髄細胞を標的細胞として用い、活性型ビタミンD₃(Calcitriol)存在下での破骨細胞の形成抑制を、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性の誘導の抑制で試験することができる。

本発明の蛋白質である破骨細胞形成抑制因子OCIFは、骨粗鬆症等の骨量減少症、リウマチ又は変形性関節症等の骨代謝異常疾患、或いは多発性骨髄腫等の骨代謝異常疾患の治療及び改善を目的とした医薬組成物として、或いはこのような疾患の免疫学的診断を確立するための抗原として有用である。本発明の蛋白質は、製剤化して経口或いは非経口的に投与することができる。即ち、本発明の蛋

白質を含む製剤は、破骨細胞形成抑制因子 O C I F を有効成分として含む医薬組成物としてヒト及び動物に対して安全に投与されるものである。

医薬組成物の形態としては、注射用組成物、点滴用組成物、坐剤、経鼻剤、舌下剤、経皮吸収剤等が挙げられる。注射用組成物の場合は、本発明の破骨細胞形成抑制因子の薬理的有効量及び製薬学的に許容しうる担体の混合物であり、その中にはアミノ酸、糖類、セルロース誘導体、及びその他の有機／無機化合物等の一般的に注射用組成物に添加される賦形剤／賦活剤を用いることもできる。又、本発明の破骨細胞形成抑制因子 O C I F とこれらの賦形剤／賦活剤を用い注射剤を調製する場合は、必要に応じて pH 調整剤、緩衝剤、安定化剤、可溶化剤等を添加して常法によって各種注射剤とすることができる。

図面の簡単な説明

第 1 図は、HiLoad-Q/FF 非吸着画分粗精製製品（試料 3）を HiLoad-S/HP カラムにかけた時の溶出プロファイルを示す。

第 2 図は、ヘパリン-5PW 粗精製製品（試料 5）をブルー-5PW カラムにかけた時の溶出プロファイルを示す。

第 3 図は、ブルー-5PW 溶出フラクション 49～50 を逆相カラムにかけた時の溶出プロファイルを示す。

第 4 図は、最終精製品の還元条件下と非還元条件下における SDS-PAGE の結果を示す。

符号の説明

レーン 1、4；分子量マーカー

レーン 2、5；ピーク 6

レーン 3、6；ピーク 7

第 5 図は、還元ピリジルエチル化後、リシルエンドプロテアーゼ処理したピーク 7 を逆相カラムにかけた時の溶出プロファイルを示す。

第 6 図は、天然(n) 及び組み換え型(r) O C I F の、非還元条件下における SDS-PAGE の結果を示す。又、(E) は 293/E B N A 細胞で生産したものを、

(C) はCHO細胞で生産したものをそれぞれ示す。

符号の説明

レーン1 ; 分子量マーカー

レーン2 ; モノマー型nOCIF

レーン3 ; ダイマー型nOCIF

レーン4 ; モノマー型rOCIF (E)

レーン5 ; ダイマー型rOCIF (E)

レーン6 ; モノマー型rOCIF (C)

レーン7 ; ダイマー型rOCIF (C)

第7図は、天然型(n)及び組み換え型(r)OCIFの、還元条件下におけるSDS-PAGEの結果を示す。又、(E)は293/EBNA細胞で生産したものを、(C)CHO細胞で生産したものをそれぞれ示す。

符号の説明

レーン8 ; 分子量マーカー

レーン9 ; モノマー型nOCIF

レーン10 ; ダイマー型nOCIF

レーン11 ; モノマー型rOCIF (E)

レーン12 ; ダイマー型rOCIF (E)

レーン13 ; モノマー型rOCIF (C)

レーン14 ; ダイマー型rOCIF (C)

第8図は、N-結合型糖鎖を除去した天然型(n)及び組み換え型(r)OCIFの、還元条件下におけるSDS-PAGEの結果を示す。又、(E)は293/EBNA細胞で生産したものを、(C)はCHO細胞で生産したものをそれぞれ示す。

符号の説明

レーン15 ; 分子量マーカー

レーン16 ; モノマー型nOCIF

レーン17 ; ダイマー型nOCIF

レーン18 ; モノマー型rOCIF (E)

レーン19 ; ダイマー型 r O C I F (E)

レーン20 ; モノマー型 r O C I F (C)

レーン21 ; ダイマー型 r O C I F (C)

第9図は、O C I F と O C I F 2 の、アミノ酸配列の比較を示す。

第10図は、O C I F と O C I F 3 の、アミノ酸配列の比較を示す。

第11図は、O C I F と O C I F 4 の、アミノ酸配列の比較を示す。

第12図は、O C I F と O C I F 5 の、アミノ酸配列の比較を示す。

第13図は、抗 O C I F ポリクローナル抗体を用いた時の、O C I F の検量線を示す。

第14図は、抗 O C I F モノクローナル抗体を用いた時の、O C I F の検量線を示す。

第15図は、O C I F の骨粗鬆症に対する治療効果を示す。

発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を挙げて本発明をさらに詳しく説明する。しかしこれらは単に例示するのみであり、本発明はこれらにより限定されるものではない。

〔実施例1〕

ヒト線維芽細胞 I M R - 90 培養液の調製

ヒト胎児肺線維芽細胞 I M R - 90 (ATCC-CCL186) は、ローラーボトル (490cm²、110 × 171mm、コーニング社) 中で80g のアルミナセラミック片 (アルミナ99.5%、東芝セラミック社) に付着させ培養した。培養には60個のローラーボトルを使用し、ローラーボトル1個当たり5%子牛血清を添加した10mM H E P E S 緩衝液添加 D M E M 培地 (ギブコ B R L 社) 500ml を用い、37℃、5%CO₂ 存在下で7~10日間静置培養した。培養後培養液を回収し、新たな培地を添加することにより1回の培養で301の I M R - 90 培養液を得た。得られた培養液を試料1とした。

〔実施例2〕

破骨細胞形成抑制活性の測定法

本発明の蛋白性破骨細胞形成抑制因子の活性測定は久米川正好らの方法（蛋白質・核酸・酵素 Vol.34 p999(1989)）及びTakahashi N. et al. の方法（Endocrinology vol.122 p1373 (1988)）に従い測定した。即ち、生後約17日のマウスより分離した骨髄細胞を用い、活性型ビタミンD₃存在下での破骨細胞形成を酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性の誘導を指標として試験し、その抑制活性を測定することによって行った。即ち、96ウェルマイクロプレートに 2×10^{-8} M活性型ビタミンD₃及び10%牛胎児血清を含む α -MEM培地（ギブコBRL社）で希釈したサンプル 100 μ lを入れ、生後約17日のマウスから得た骨髄細胞 3×10^5 個を100 μ lの10%牛胎児血清を含む α -MEM培地に懸濁させて播種し、5%CO₂、37℃、湿度 100%にて一週間培養した。培養3日目と5日目に、培養液 160 μ lを廃棄し、 1×10^{-8} M活性型ビタミンD₃及び10%牛胎児血清を含む α -MEM培地で希釈したサンプル 160 μ lを添加した。培養7日後にリン酸塩緩衝生理食塩水で洗浄した後エタノール／アセトン（1：1）溶液で細胞を室温にて1分間固定し、破骨細胞形成を酸性ホスファターゼ活性測定キット（Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログNo.387-A、シグマ社）を用いた染色で検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少をOCIF活性とした。

〔実施例3〕

OCIFの精製

i) ヘパリン・セファロースCL-6Bによる精製

約90 lのIMR-90培養液（試料1）を、0.22 μ mのフィルター（親水性ミリディスク、2,000cm²、ミリポア社）で濾過した後、3回に分けて0.3M NaClを含む10mM Tris-HCl 緩衝液（以下、Tris-HClという）、pH7.5で平衡化させたヘパリン・セファロースCL-6B カラム（5×4.1cm、ゲル容量80ml）にかけた。流速500ml/hrにて、10mM Tris-HCl、pH7.5で洗浄した後、2M NaClを含む10mM Tris-HCl、pH7.5で溶出を行い、ヘパリン・セファロースCL-6B 吸着画分900mlを得、得られた画分を試料2とした。

ii) Hi Load-Q/FFによる精製

ヘパリン・セファロース吸着画分（試料2）を10mM Tris-HCl、pH7.5 に対し

て透析した後、0.1 %になるようにCHAPSを加え4℃で一晩放置したものを、2回に分けて0.1 % CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で平衡化した陰イオン交換カラム(HiLoad-Q/FF、 2.6×10 cm、ファルマシア社)にかけ、非吸着画分1000mlを得た。得られた画分を試料3とした。

iii) HiLoad-S/HPによる精製

HiLoad-Q非吸着画分(試料3)を、0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で平衡化した陽イオン交換カラム(HiLoad-S/HP、 2.6×10 cm、ファルマシア社)にかけた。0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で洗浄した後、100分間でNaClを1Mにする直線勾配、流速8ml/分にて溶出を行い、12ml/フラクションにて分取を行った。フラクション1~40を10フラクションづつ4つの画分にまとめ、それぞれ100 μ lを用いてOCIF活性を測定した。OCIF活性はフラクション11~30に認められた(図1: 図中、++は破骨細胞形成が80%以上抑制される活性を、+は破骨細胞形成が30~80%抑制される活性を、-は活性が検出されないことをそれぞれ示す)。より比活性の高いフラクション21~30を試料4とした。

iv) アフィニティーカラム(ヘパリン-5PW)による精製

120mlの試料4を240mlの0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で希釈した後、0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で平衡化したアフィニティーカラム(ヘパリン-5PW、 0.8×7.5 cm、トーソー社)にかけた。0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で洗浄した後、60分間でNaClを2Mにする直線勾配、流速0.5ml/分にて溶出を行い、0.5ml/フラクションにて分取を行った。各フラクション50 μ lを用いてOCIF活性を測定し、約0.7~1.3M NaClで溶出されるOCIF活性画分10mlを得、試料5とした。

v) アフィニティーカラム(ブルー-5PW)による精製

10mlの試料5を190mlの0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で希釈した後、0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で平衡化したアフィニティーカラム(ブルー-5PW、 0.5×5.0 cm、トーソー社)にかけた。0.1 %CHAPSを含む50mM Tris-HCl、pH7.5で洗浄した後、60分間でNaClを2Mにする直線

勾配、流速0.5ml/分にて溶出を行い、0.5ml/フラクションにて分取を行った。各フラクション25 μ lを用いてOCIF活性を測定し、約1.0～1.6M NaClで溶出されるOCIF活性フラクション49～70を得た（図2 図中、++は破骨細胞形成が80%以上抑制される活性を、+は破骨細胞形成が30～80%抑制される活性を示す）。

vi) 逆相カラムによる精製

得られたフラクション49～50mlに、10 μ lの25%TFA（トリフルオロ酢酸）を加えた後、0.1%TFAを含む25%アセトニトリルで平衡化した逆相カラム（BU-300、C4、2.1 \times 220mm、パーキンエルマー社）にかけ、60分間でアセトニトリルを55%にする直線勾配、流速0.2ml/分にて溶出を行い、各ピークを分取した（図3）。各ピークフラクションの100 μ lを用いてOCIF活性を測定し、ピーク6及びピーク7に濃度依存的に活性を検出した。結果を表1に示す。

第1表 逆相カラムから溶出されたOCIF活性

| 希釈率 | 1/40 | 1/120 | 1/360 | 1/1080 |
|------|------|-------|-------|--------|
| ピーク6 | ++ | ++ | + | — |
| ピーク7 | ++ | + | — | — |

（表中、++は破骨細胞形成が80%以上抑制される活性を、+は破骨細胞形成が30～80%抑制される活性を、—は活性が検出されないことを示す。）

〔実施例4〕

OCIFの分子量測定

OCIF活性の認められたピーク6及びピーク7各40 μ lを用い、還元条件下と非還元条件下でSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。即ち、各ピークフラクション20 μ lづつを2本のチューブに分取し減圧濃縮した後、1mM EDTA、2.5%SDS、及び0.01%ブロモフェノールブルーを含む10mM Tris-HCl, pH8.15 μ lで溶解し、それぞれを非還元条件下及び還元条件下（5% 2-メルカプトエタノール存在下）で37℃で一晩放置後、それぞれの1 μ lをSDS

ーポリアクリルアミドゲル電気泳動に負荷した。電気泳動は10-15%アクリルアミドのグラジエントゲル(ファルマシア社)を使用し、電気泳動装置Phast System(ファルマシア社)を用いて行った。分子量マーカーとして、ホスホリラーゼb(94kD)、ウシ血清アルブミン(67kD)、オボアルブミン(43kD)、カルボニックアンヒドラーゼ(30kD)、トリプシンインヒビター(20.0kD)、 α -ラクトアルブミン(14.4kD)を用いた。電気泳動終了後、Phast Gel Silver Stain Kit(ファルマシア社)を用いて銀染色を行った。結果を図4に示す。

その結果、ピーク6については還元条件下、非還元条件下で約60kDの蛋白質のバンドが検出された。又、ピーク7については、還元条件下で約60kD、非還元条件下で約120kDaの蛋白質のバンドが検出された。従って、ピーク7はピーク6の蛋白質のホモダイマーであると考えられる。

(実施例5)

OCIFの熱安定性試験

ブルー5PWフラクション51~52を混合したサンプルから20 μ lずつを取り、10mMリン酸塩緩衝生理食塩水、pH7.2 30 μ lを加えた後、70℃及び90℃にて10分間、又は56℃にて30分間熱処理を行った。このサンプルを用い、実施例2記載の方法に従いOCIF活性を測定した。結果を表2に示す。

第2表 OCIFの熱安定性

| 希 釈 率 | 1/300 | 1/900 | 1/2700 |
|--------|-------|-------|--------|
| 未処理 | ++ | + | - |
| 70℃10分 | + | - | - |
| 56℃30分 | + | - | - |
| 90℃10分 | - | - | - |

(表中、++は破骨細胞形成が80%以上抑制される活性を、+は破骨細胞形成が30~80%抑制される活性を、-は活性が検出されないことを示す。)

BAD ORIGINAL

〔実施例 6〕

内部アミノ酸配列の決定

ブルー—5 P W フラクション 51~70 について、2 フラクションづつを混合して 1 ml とし、それぞれの試料に 10 μ l の 25% T F A を加えた後、1 ml ずつ 10 回にわけて 0.1 % T F A を含む 25% アセトニトリルで平衡化した逆相カラム (BU-300、C4、2.1 \times 220mm、パーキンエルマー社) にかけて、60 分間でアセトニトリルを 55% にする直線勾配、流速 0.2 ml/分にて溶出を行い、ピーク 6 とピーク 7 を集めた。得られたピーク 6 とピーク 7 の一部について、それぞれプロテインシーケンサー (プロサイス、494 型、パーキンエルマー社) を用い、N 末端アミノ酸配列分析を行ったが、分析不能でありこれらの蛋白質の N 末端はブロックされている可能性が示唆された。そこで、これらの蛋白質の内部アミノ酸配列を解析した。即ち、ピーク 6 とピーク 7 のそれぞれを遠心濃縮した後、それぞれに 100 μ g ジチオスレイトール、10mM E D T A、7 M 塩酸グアニジン、及び 1 % C H A P S を含む 0.5M Tris-HCl, pH8.5 50 μ l を加えて室温で 4 時間放置し還元した後、0.2 μ l の 4-ビニルピリジンを加え、室温暗所で一晩放置しビリジルエチル化した。これらのサンプルに 1 μ l の 25% T F A を加え、0.1 % T F A を含む 20% アセトニトリルで平衡化した逆相カラム (BU-300, C4, 2.1 \times 30mm, パーキンエルマー社) にかけて、30 分間でアセトニトリル濃度を 50% にする直線勾配、流速 0.3 ml/分で溶出を行い、還元ビリジルエチル化 O C I F サンプルを得た。還元ビリジルエチル化したサンプルのそれぞれを遠心濃縮し、8M 尿素及び 0.1% Tween80 を含む 0.1M Tris-HCl, pH9 25 μ l で溶解した後、73 μ l の 0.1M Tris-HCl, pH9 で希釈し、0.02 μ g の A P 1 (リシルエンドプロテアーゼ、和光純薬社) を加え、37 $^{\circ}$ C で 15 時間反応させた。反応液に 1 μ l の 25% T F A を加え、0.1 % T F A で平衡化した逆相カラム (RP-300, C8, 2.1 \times 220mm、パーキンエルマー社) にかけて、70 分間でアセトニトリル濃度を 50% にする直線勾配、流速 0.2 ml/分で溶出を行い、ペプチドフラグメントを得た (図 5)。得られたペプチドフラグメント (P1~P3) について、プロテインシーケンサーを用いアミノ酸配列分析を行った。結果を配列表 配列番号 1~3 に示す。

END ORIGINAL

〔実施例 7〕

cDNA配列の決定i) IMR-90細胞からのポリ(A)⁺ RNA の単離

IMR-90細胞のポリ(A)⁺ RNA は、ファストトラックmRNAアイソレーションキット（インヴィトロジェン社）を用い、そのマニュアルに準じて単離した。この方法により 1×10^8 個のIMR-90細胞より約 $10 \mu\text{g}$ のポリ(A)⁺ RNA を取得した。

ii) ミックスプライマーの作製

先に得られたペプチド（配列表 配列番号 2 及び 3）のアミノ酸配列をもとに、次の 2 種のミックスプライマーを合成した。即ち、ペプチド P 2（配列番号 2 のペプチド）の 6 番目(Gln) から 12 番目(Leu) までのアミノ酸配列をコードするすべての塩基配列を持つオリゴヌクレオチドの混合物（ミックスプライマー、No.2F）を合成した。又、ペプチド P 3（配列番号 3 のペプチド）の 6 番目(His) から 12 番目(Lys) までのアミノ酸配列をコードするすべての塩基配列に対する相補的オリゴヌクレオチドの混合物（ミックスプライマー、No.3R）を合成した。用いたミックスプライマーの塩基配列を、表 3 に示す。

第 3 表

=No.2F =

```

5'-CAAGAACAAA CTTTCAATT-3'
   G  G  G   C  C  GC
                   A
                   G

```

=No.3R =

```

5'-TTTATACATT GTAAAAGAAT G-3'
   C  G       C  G  GCTG
                   A  C
                   G  T

```

iii) OCIFcDNA断片のPCR による増幅

実施例 7-i) で得たポリ(A)⁺ RNA、 $1 \mu\text{g}$ を鋳型としてスーパースクリプト II cDNA 合成キット（ギブコ BRL 社）を用いて、同社のプロトコールに従っ

て一本鎖 cDNA を合成し、この cDNA と実施例 7 - ii) で示したプライマーを用いて、PCR を行い、OCIFcDNA 断片を取得した。以下に条件を示す。

| | | |
|-------------------------|-------|---------|
| 10X Ex Taq バッファー (宝酒造社) | 5 | μ l |
| 2.5 mM dNTP | 4 | μ l |
| cDNA 溶液 | 1 | μ l |
| Ex Taq (宝酒造社) | 0.25 | μ l |
| 蒸留水 | 29.75 | μ l |
| 40 μ M プライマー No.2F | 5 | μ l |
| 40 μ M プライマー No.3R | 5 | μ l |

上記の溶液を微量遠心チューブ中で混合後、以下の条件で PCR を行った。95℃ で 3 分前処理後、95℃ 30 秒、50℃ 30 秒、70℃ 2 分の 3 段階の反応を 30 回繰り返したのち、70℃ 5 分保温した。反応液の一部をアガロース電気泳動し約 400bp の均一な DNA 断片が得られたことを確認した。

〔実施例 8〕

PCR により増幅された OCIFcDNA 断片のクローニング及び塩基配列決定

実施例 7 - iii) で得られた OCIFcDNA 断片を、Marchuk, D の方法 (Nucleic Acid Res., Vol.19, p1154, 1991) によってプラスミド pBluescript II SK⁻ (ストラタジーン社) に DNA ライゲーションキット Ver.2 (宝酒造社) を用いて挿入し、大腸菌 DH5 α (ギブコ BRL 社) の形質転換を行った。得られた形質転換株を増殖させ、約 400bp の OCIFcDNA 断片が挿入されたプラスミドを常法に従い精製した。このプラスミドを pBSOCIF と名付け、このプラスミドに挿入されている OCIFcDNA の塩基配列をタックダイデオキシターミネーターサイクルシーケンシングキット (Taq Dye Deoxy Terminator Cycle Sequencing kit; パーキンエルマー社) を用いて決定した。この OCIFcDNA の大きさは、397 bp であった。この塩基配列から予測される 132 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列中に、ミックスプライマーを設計するのに用いた OCIF の内部アミノ酸配列 (配列表配列番号 2 及び 3) をそれぞれ N 末側、C 末側に見出すことができた。又、OCIF の内部アミノ酸配列 (配列番号 1) を、この 132 個のアミノ酸からなるアミノ酸配列中に

見出すことができた。以上の結果より、クローニングした397 bpの cDNA は、OCIFcDNA断片であることが確認された。

〔実施例 9〕

DNAプローブの作製

実施例 8 で作成された397bp のOCIFcDNA断片が挿入されたプラスミドを鋳型にして実施例 7 - iii) の条件でPCRを行なうことにより、このOCIFcDNA断片を増幅した。アガロース電気泳動により397bp のOCIFcDNA断片を分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。このDNA をメガプライムDNAラベリングキット（アマシャム社）を用いて $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{dCTP}$ で標識し、全長のOCIFcDNAをスクリーニングするためのプローブとして用いた。

〔実施例 10〕

cDNAライブラリーの作成

実施例 7 - i) で得られたポリ(A)・RNA、2.5 μg を鋳型としてグレートレングス cDNA 合成キット（クロンテック社）を用いて同社のプロトコールに従い、oligo(dT)primer を用いて cDNA の合成、EcoRI-SalI-Not-I アダプター付加、cDNA サイズフラクショネーションを行いエタノール沈殿の後10 μl のTEバッファーに溶解した。得られたアダプター付加 cDNA、0.1 μg をT4DNA リガーゼを用いてあらかじめEcoRI で切断した1 μg の λZAP エクスプレスベクター（ストラタジーン社）に挿入した。このようにして得られた cDNA 組み換えファージDNA 溶液をギガバックゴールドII（ストラタジーン社）を用いてインヴィトロパッケージング反応に供し、 λZAP エクスプレス組み換えファージを作成した。

〔実施例 11〕

組み換えファージのスクリーニング

実施例 10 で得られた組み換えファージを37℃で15分間大腸菌 XL1-Blue MRF'（ストラタジーン社）に感染させたのち、50℃に加温した0.7 %の寒天を含むNZY 培地に添加し、NZY 寒天培地プレートに流しこんだ。37℃で一晩培養後、ブランクの生じたプレート上にハイボンドN（アマシャム社）を約30秒密着させた。

このフィルターを常法に従いアルカリ変性した後、中和し、2XSSC 溶液に浸したのちUVクロスリンク（ストラタジーン社）によりDNA をフィルターに固定化した。得られたフィルターを100 μ g/mlのサケ精子DNA を含むハイブリダイゼーションバッファー（アマシャム社）に浸漬し65℃で4 時間前処理した後、熱変性した上記DNA プローブ(2X10⁵cpm/ml) を添加した上記バッファーに移し替え65℃で一晩ハイブリダイゼーションを行った。反応後フィルターを2XSSC で2 回、0.1XSSC, 0.1% SDS溶液で2回それぞれ65℃で10分間洗浄した。得られたいくつかの陽性クローンを、さらに2 回スクリーニングを行うことにより純化した。それらの中から約1.6kb のインサートを持つものを以下に用いた。この純化したファージを λ OCIFと名付けた。純化した λ OCIFを λ ZAP エクスプレスクローニングキット（ストラタジーン社）のプロトコールに従い、大腸菌XL1-Blue MRF' に感染させたのち、ヘルパーファージExAssist（ストラタジーン社）で多重感染を行い、その培養上清を大腸菌XL0LR(ストラタジーン社)に感染させたのちカナマイシン耐性株を拾うことによりpBKCMV（ストラタジーン社）に上述の1.6kb のインサートが挿入されたプラスミドpBKOCIF をもつ形質転換株を得た。この形質転換株はpBK/01 F10 として、通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所に受託番号FERM BP-5267（平成7年10月25日にFERM P-14998の原寄託よりブタベスト条約に基づく寄託に移管）として寄託してある。このプラスミドをもつ形質転換株を増殖させ、常法によりプラスミドを精製した。

〔実施例12〕

OCIFの全アミノ酸配列をコードするcDNAの塩基配列の決定

実施例11で得られたOCIFcDNAの塩基配列をタックダイデオキシターミネーターサイクルシーケンシングキット（パーキンエルマー社）を用いて決定した。用いたプライマーはT3, T7 プライマー（ストラタジーン社）及びOCIFcDNAの塩基配列に基づいて設計された合成プライマーであり、その配列を配列表配列番号16～29に示す。

決定されたOCIFの塩基配列を配列番号6に、その配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号5にそれぞれ示す。

〔実施例 1 3〕

2 9 3 / E B N A 細胞による組み換え型 O C I F の生産i) OCIFcDNAの発現プラスミドの作製

実施例 1 1 で得られた約 1.6kb の OCIFcDNA が挿入されたプラスミド pBKOCIF を制限酵素 BamHI 及び XhoI で消化し、OCIFcDNA を切り出し、アガロース電気泳動によって分離後、Q I A E X ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。この OCIFcDNA を、あらかじめ制限酵素 BamHI 及び XhoI で消化しておいた発現プラスミド pCEP4 （インヴィトロジェン社）に、ライゲーションキット Ver.2 （宝酒造社）を用いて挿入し、大腸菌 DH5 α （ギブコ B R L 社）の形質転換を行った。得られた形質転換株を増殖させ、OCIFcDNA が挿入された発現プラスミド pCEPOCIF をキアゲンカラム（キアゲン社）を用いて精製した。O C I F 発現プラスミド pCEPOCIF をエタノールによって沈澱させた後、無菌蒸留水に溶解し以下の操作に用いた。

ii) OCIFcDNAのトランジェントな発現及びその活性の測定

実施例 1 3 - i) で得られた O C I F 発現プラスミド pCEPOCIF を用いて、以下に述べる方法で組み換え O C I F を発現させ、その活性を測定した。8 \times 10⁵ 個の 293/EBNA 細胞（インヴィトロジェン社）を 6 ウェルプレートの各ウェルに 10% 牛胎児血清（ギブコ B R L 社）を含む I M D M 培地（ギブコ B R L 社）を用いて植え込み、翌日、培地を除いた後、無血清 I M D M 培地で細胞を洗った。トランスフェクション用試薬 リポフェクタミン（ギブコ B R L 社）添付のプロトコールに従い、あらかじめ O P T I - M E M 培地（ギブコ B R L 社）を用いて希釈しておいた pCEPOCIF と リポフェクタミン を混合した後、この混合液を各ウェルの細胞に加えた。用いた pCEPOCIF 及び リポフェクタミン の量はそれぞれ 3 μ g 及び 12 μ l であった。3 8 時間後、培地を除き 1 ml の新しい O P T I - M E M 培地を加え、さらに 3 0 時間後、培地を回収し、これを O C I F 活性測定用サンプルとした。O C I F の活性測定は以下のようにして行った。生後約 1 7 日のマウス骨髓細胞からの活性型 ビタミン D₃ 存在下での破骨細胞形成を酒石酸耐性酸性ホスファターゼ活性の誘導で試験し、その抑制活性を測定し、O C I F の活性とした。すなわ

ち、96ウェルマイクロプレートに 2×10^{-8} M 活性型ビタミン D₃ 及び 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地（ギブコ BRL 社）で希釈したサンプル 100 μ l を入れ、生後約 17 日のマウス骨髄細胞 3×10^5 個を 100 μ l の 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地に懸濁させて播種し、5% CO₂、37℃、湿度 100% にて一週間培養した。培養 3 日目と 5 日目に、培養液 160 μ l を廃棄し、 1×10^{-8} M 活性型ビタミン D₃ 及び 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地で希釈したサンプル 160 μ l を添加した。培養 7 日後にリン酸塩緩衝生理食塩水で洗浄した後エタノール／アセトン（1：1）溶液で細胞を室温にて 1 分間固定し、破骨細胞形成を酸性ホスファターゼ活性測定キット（Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログ No. 387-A、シグマ社）を用いた染色で検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少を OCIF 活性とした。その結果、表 4 に示すように、先に IMR-90 の培養液から得られた天然型 OCIF と同様の活性をこの培養液が有することが確認された。

第 4 表 293/EBNA 細胞で発現させた培養液中の OCIF 活性

| 希釈率 | 1/20 | 1/40 | 1/80 | 1/160 | 1/320 | 1/640 | 1/1280 |
|--------|------|------|------|-------|-------|-------|--------|
| OCIF | | | | | | | |
| 遺伝子導入 | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | - |
| ベクター導入 | - | - | - | - | - | - | - |
| 未処理 | - | - | - | - | - | - | - |

（表中、++ は破骨細胞形成が 80% 以上抑制される活性を、+ は破骨細胞形成が 30～80% 抑制される活性を、- は活性が検出されないことを示す。）

iii) 293/EBNA 細胞由来組み換え型 OCIF の精製

実施例 13-ii) に記載した 293/EBNA 細胞を大量培養して得た培養液 1.8l に 0.1% になるように CHAPS を加え、0.22 μ m のフィルター（ステリベックス GS、ミリポア社）で濾過した後、10mM Tris-HCl, pH7.5 で平衡化させた 50ml のヘパリン・セファロース CL-6B カラム（2.6×10cm、ファルマシア社）にか

けた。0.1 % CHAPSを含む10mM Tris-HCl, pH7.5 で洗浄した後、100 分間でNaClを2Mにする直線勾配、流速 4 ml/分にて溶出を行い、8ml/フラクションにて分取を行った。各フラクション150 μ l を用いて実施例2の方法に従ってOCIF活性を測定し、約 0.6~1.2M NaCl で溶出されるOCIF活性画分 112mlを得た。

得られたOCIF活性画分 112mlを0.1 % CHAPSを含む 10mM Tris-HCl, pH7.5 で1000mlに希釈した後、0.1 % CHAPSを含む 10mM Tris-HCl, pH7.5 で平衡化させたアフィニティカラム（ヘパリン -5PW, 0.8×7.5 cm、トーソー社）にかけた。0.1 % CHAPSを含む 10mM Tris-HCl, pH7.5 で洗浄した後、60分間でNaClを2Mにする直線勾配、流速0.5ml/分にて溶出を行い、0.5ml/フラクションにて分取を行った。

得られたフラクション各 4 μ l を用いて実施例4の方法に従って還元及び非還元条件下でSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。その結果、フラクション30~32には還元条件下で約60kD、非還元条件下で約60kDと約 120kDのOCIFバンドのみが検出されたので、フラクション30~32を集め純化293/EBNA細胞由来組み換え型OCIF (rOCIF(E)) 画分とした。BSAをスタンダードとして用いたローリー法による蛋白定量の結果、535 μ g/mlのrOCIF(E) 1.5ml が得られたことが明らかになった。

〔実施例14〕

CHO細胞による組み換え型OCIFの生産

i) OCIFの発現プラスミドの作製

実施例11で得られた約1.6kb のOCIFcDNAが挿入されたプラスミドpBKOCIF を制限酵素SalI及びEcoRV で消化し、約1.4kb のOCIFcDNA断片を切り出し、アガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。又、発現ベクターpcDL-SR α 296 (Molecular and Cellular Biology, Vol.8, pp466-472, 1988) を制限酵素PstI及びKpnIで消化し、約3.4kb の発現ベクターDNA 断片をアガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。D

NAブランディングキット（宝酒造社）を用いて、これらの精製したOCIFcDNA断片と発現ベクターDNA断片の末端を平滑化した。次に、ライゲーションキット Ver.2（宝酒造社）を用いて、平滑化された発現ベクターDNA断片にOCIFcDNA断片を挿入し、大腸菌DH5 α （ギブコBRL社）の形質転換を行い、OCIF発現プラスミドpSR α OCIFをもつ形質転換株を得た。

ii) 発現プラスミドの調製

実施例13-i)で得られたOCIF発現プラスミドpSR α OCIFをもつ形質転換株及びWO92/01053号公報に示されるマウスDHFR遺伝子発現プラスミドpBAdDSVをもつ形質転換株をそれぞれ常法を用いて増殖させ、Maniatisら（Molecular cloning, 2nd edition）の方法に従いアルカリ法及びポリエチレングリコール法で処理し、塩化セシウム密度勾配遠心法により精製した。

iii) CHOdhFr⁻細胞の蛋白質不含培地への馴化

10%牛胎児血清（ギブコBRL社）を含むIMDM培地（ギブコBRL社）で継代されていたCHOdhFr⁻細胞（ATCC-CRL9096）は、無血清培地EX-CELL301（JRHバイオサイエンス社）で馴化後、さらに蛋白質不含培地EX-CELL PF CHO（JRHバイオサイエンス社）で馴化させた。

iv) OCIF発現プラスミド及びDHFR発現プラスミドのCHOdhFr⁻細胞への導入

実施例14-ii)で調製したOCIF発現プラスミドpSR α OCIF及びDHFR発現プラスミドpBAdDSVを用いて実施例14-iii)で調製したCHOdhFr⁻細胞を下記に示すエレクトロポレーション法により形質転換した。pSR α OCIFプラスミド200 μ gとpBAdDSVプラスミド20 μ gを無菌的に10%牛胎児血清（ギブコBRL社）を含むIMDM培地（ギブコBRL社）0.8mlに溶解後、この0.8mlを用いて2 \times 10⁷個のCHOdhFr⁻細胞を浮遊させた。この細胞浮遊液をキューベット（バイオラッド社）に入れ、ジーンパルサー（バイオラッド社）を用いて、360V、960 μ Fの条件でエレクトロポレーション法により形質転換を行った。10mlのEX-CELL PF CHO培地の入った浮遊細胞用Tフラスコ（住友ベークライト社）にエレクトロポレーション済の細胞浮遊液を移し、CO₂インキュベーター中で2日間培

養した。EX-CELL PF CHO培地を用いて5000cells/wellの濃度で96ウェルマイクロプレートにまき、約2週間培養した。EX-CELL PF CHO培地を核酸は含まず、この培地では親株のCHOdhFr⁻は増殖できないので、DHFRを発現する細胞株だけが選択されてくる。OCIF発現プラスミドをDHFR発現プラスミドの10倍量用いているので、DHFRを発現する細胞株の大部分はOCIFを発現する。得られたDHFRを発現する細胞株から培養上清中のOCIF活性の高い細胞株を、実施例2で示した測定法によってスクリーニングした。得られたOCIF高生産株につきEX-CELL PF CHO培地を用いて限界希釈法により細胞のクローニングを行い、得られたクローンについて培養上清中のOCIF活性の高い細胞株をスクリーニングし、OCIF高生産クローン5561を得た。

v) 組み換え型OCIFの生産

組み換えOCIF (rOCIF) の生産するため、EX-CELL 301 培地3lに形質転換CHO細胞 (5561) を 1×10^5 cells/ml となるように接種し、スピナーフラスコを用いて37℃で4、5日培養した。細胞の濃度が約 1×10^6 cells/ml になったところで、約2.7lの培地を回収した。約2.7lのEX-CELL 301 培地を加え、培養を繰り返した。3基のスピナーフラスコを用い、約20lの培養液を採取した。

vi) CHO細胞由来組み換え型OCIFの精製

実施例14-(v) で得られた培養液1lに0.1%になるようにCHAPSを加え、0.22μmのフィルター(ステリベックスGS、ミリポア社)で濾過した後、10mM Tris-HCl, pH7.5で平衡化させた50mlのヘパリン・セファロースFFカラム(2.6×10cm、ファルマシア社)にかけた。0.1%CHAPSを含む10mM Tris-HCl, pH7.5で洗浄した後、100分間でNaClを2Mにする直線勾配、流速4ml/分にて溶出を行い、8ml/フラクションにて分取を行った。各フラクション150μlを用いて実施例2の方法に従ってOCIF活性を測定し、約0.6~1.2Mで溶出されるOCIF活性画分112mlを得た。

得られたOCIF活性画分112mlを0.1%CHAPSを含む10mM Tris-HCl, pH7.5で1200mlに希釈した後、0.1%CHAPSを含む10mM Tris-HCl, pH7.5で平衡化させたアフィニティカラム(ブルー-5PW, 0.5×5cm、トーソー社)に

かけた。0.1 % C H A P S を含む 10mM Tris-HCl, pH7.5 で洗浄した後、90分間でNaClを3Mにする直線勾配、流速0.5ml/分にて溶出を行い、0.5ml/フラクションにて分取を行った。

得られたフラクション各4 μ l を用いて実施例4の方法に従って還元及び非還元条件下でSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った。その結果、フラクション30~38には還元条件下で約60kD、非還元条件下で約60kDと約120kDのOCIFバンドのみが検出されたので、フラクション30~38を集め精製CHO細胞由来組み換え型OCIF [rOCIF (C)] 画分とした。BSAをスタンダードとしたローリー法による蛋白定量の結果、113 μ g/mlのrOCIF (C) 4.5 mlが得られたことが明らかになった。

〔実施例15〕

組み換え型OCIFのN末端構造解析

3 μ gの精製rOCIF(E)及びrOCIF(C)を、プロスピン (ProSpin, パーキンエルマー社) を用いてポリビニリデンジフルオリド (PVDF) 膜に固定し、20%メタノールで洗浄した後、プロテインシーケンサー (プロサイス、492 型、パーキンエルマー社) を用いてN末端アミノ酸配列分析を行った。結果を配列表配列番号7に示す。

rOCIF(E)と rOCIF(C) のN末端アミノ酸は、配列表配列番号5に記載したアミノ酸配列の翻訳開始点 Metから22番目の Gluで、Met から Glnまでの21アミノ酸はシグナルペプチドであることが明らかになった。又、IMR-90培養液から精製し得られた天然型OCIFのN末端アミノ酸配列が分析不能であったのは、N末端のGluが培養中又は精製中にピログルタミン酸に変換したためと考えられた。

〔実施例16〕

組み換え型 (r) OCIF及び天然型 (n) OCIFの生物活性

i) マウス骨髄細胞系での、ビタミンD₃で誘導される破骨細胞形成の抑制

96ウェルマイクロプレートに、 2×10^{-8} M活性型ビタミンD₃及び10%牛胎児血清を含む α -MEM培地 (ギブコBRL社) で250ng/mlから連続的に二分の一希釈した精製rOCIF(E)及び nOCIF 100 μ lを入れた。このウェルに生後約17日の

マウス骨髄細胞 3×10^5 個を $100 \mu\text{l}$ の 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地に懸濁させて播種し、5% CO_2 、 37°C 、湿度 100% にて一週間培養した。培養 7 日後に、実施例 2 の方法に従って酸性ホスファターゼ活性測定キット (Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログ No. 387-A, シグマ社) を用いた染色を行い破骨細胞形成を検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少を OCIF 活性とした。酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少率は、染色した細胞の色素を可溶化し、その吸光度を測定することにより算出した。即ち、細胞を固定し染色した各ウェルに 0.1N 水酸化ナトリウム-ジメチルスルフォキシド混合液 (1:1) $100 \mu\text{l}$ を加えよく振盪した。色素を十分に溶解させた後、マイクロプレートリーダー (イムノリーダー NJ-2000、インターメッド社) を用い、測定波長 590nm、対照波長 490nm にて吸光度を測定した。又、吸光度を測定する際のブランクウェルとして、ビタミン D_3 未添加のウェルを用いた。結果は、OCIF 未添加のウェルでの吸光度値を 100 とした百分率値で表し、表 5 に示す。

第 5 表 マウス骨髄細胞系での OCIF による
破骨細胞形成抑制 (ビタミン D_3)

| OCIF 濃度 (ng/ml) | 250 | 125 | 63 | 31 | 16 | 0 |
|-----------------|-----|-----|----|----|----|-----|
| rOCIF (E) | 0 | 0 | 3 | 62 | 80 | 100 |
| nOCIF | 0 | 0 | 27 | 27 | 75 | 100 |

nOCIF と同様に rOCIF (E) にも、16ng/ml 以上の濃度で用量依存的な破骨細胞形成抑制活性が見られた。

ii) ストローマ細胞とマウス脾臓細胞の共培養系でのビタミン D_3 で誘導される破骨細胞形成の抑制

ビタミン D_3 で誘導されるストローマ細胞とマウス脾臓細胞の共培養系での破骨細胞形成の試験は、宇田川らの方法 (Endocrinology, Vol. 125, p1805-1813, 1989) に従って行った。即ち、96ウェルマイクロプレートに $2 \times 10^{-8}\text{M}$ 活性型ビタミン D_3 、 $2 \times 10^{-7}\text{M}$ デキサメサゾン及び 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地 (ギブコ BRL 社) で、連続的に希釈した精製 rOCIF (E)、rOCIF (C) 及び nOCIF

100 μ lを入れた。このウェルにマウス骨髄由来ストローマ細胞株 S T 2 細胞 (RIKEN Cell Bank-RCB0224) 5×10^3 個と生後約 8 週間の ddyマウス脾臓細胞 1×10^5 個を 100 μ l の 10%牛胎児血清を含む α -M E M 培地に懸濁させて播種し、5%CO₂、37℃、湿度 100%にて 5 日間培養した。培養 5 日後にリン酸塩緩衝生理食塩水で洗浄した後、エタノール/アセトン (1 : 1) 溶液で細胞を室温にて 1 分間固定し、破骨細胞形成を酸性ホスファターゼ活性測定キット (Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログ No.387-A, シグマ社) を用いた染色で検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少を OCIF 活性とした。又、酸性ホスファターゼ活性陽性細胞数の減少率は実施例 16-i) に記載した方法に従って染色された細胞の色素を溶解させて算出した。rOCIF(E) と rOCIF(C) を用いて試験した結果を表 6 に、rOCIF(E) と nOCIF を用いて試験した結果を表 7 に、それぞれ示す。

第 6 表 ストローマ細胞とマウス脾臓細胞の共培養系での OCIF による破骨細胞形成抑制

| OCIF 濃度 (ng/ml) | 50 | 25 | 13 | 6 | 0 |
|-----------------|----|----|----|----|-----|
| rOCIF(E) | 3 | 22 | 83 | 80 | 100 |
| rOCIF(C) | 13 | 19 | 70 | 96 | 100 |

第 7 表 ストローマ細胞とマウス脾臓細胞の共培養系での OCIF による破骨細胞形成抑制

| OCIF 濃度 (ng/ml) | 250 | 63 | 16 | 0 |
|-----------------|-----|----|----|-----|
| rOCIF(E) | 7 | 27 | 37 | 100 |
| nOCIF | 13 | 23 | 40 | 100 |

nOCIF と同様に rOCIF(E) 及び rOCIF(C) についても、6 ~ 16 ng/ml 以上の濃度で容量依存的な破骨細胞形成抑制活性が見られた。

iii) PTHで誘導される破骨細胞形成の抑制

PTHで誘導される破骨細胞形成の試験は、高橋らの方法 (Endocrinology, Vol.122, p1373-1382, 1988)に従って行った。即ち、96ウェルマイクロプレートに 2×10^{-8} M PTH及び10%牛胎児血清を含む α -MEM培地(ギブコ社)で、125ng/mlから連続的に希釈したnOCIF及び精製rOCIF(E) 100 μ lを入れた。このウェルに生後約17日のマウス骨髄細胞 3×10^5 個を 100 μ l の10%牛胎児血清を含む α -MEM培地に懸濁させて播種し、5% CO₂、37℃、湿度100 %にて5日間培養した。培養5日後にリン酸塩緩衝生理食塩水で洗浄した後エタノール/アセトン(1:1)溶液で細胞を室温にて1分間固定し、破骨細胞形成を酸性ホスファターゼ活性測定キット(Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログ No. 387-A, シグマ社)を用いた染色で検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞の減少をOCIF活性とした。又、酸性ホスファターゼ活性陽性細胞数の減少率は実施例16-i)に記載した方法に従って染色された細胞の色素を溶解させて算出した。結果を表8に示す。

第8表 マウス骨髄細胞系でのOCIFによる破骨細胞形成抑制(PTH)

| OCIF 濃度 (ng/ml) | 125 | 63 | 31 | 16 | 8 | 0 |
|-----------------|-----|----|----|----|----|-----|
| rOCIF(E) | 6 | 58 | 58 | 53 | 88 | 100 |
| nOCIF | 18 | 47 | 53 | 56 | 91 | 100 |

nOCIFと同様にrOCIF(E)についても、16ng/ml以上の濃度で容量依存的な破骨細胞形成抑制活性が見られた。

iv) IL-11で誘導される破骨細胞形成の抑制

IL-11で誘導される破骨細胞形成の試験は、田村らの方法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.90, p11924-11928, 1993)に従って行った。即ち、96ウェルマイクロプレートに 20ng/ml IL-11及び10%牛胎児血清を含む α -MEM培地(ギブコBRL社製)で希釈したnOCIF及び精製rOCIF(E) 100 μ lを入れた。このウェルにマウス新生児頭蓋骨由来前脂肪細胞株 MC3T3-G2/PA6 細胞(RIKEN Cell Bank-

RCB1127) 5×10^3 個と生後約 8 週間の ddy マウス 脾臓細胞 1×10^5 個を $100 \mu\text{l}$ の 10% 牛胎児血清を含む α -MEM 培地に懸濁させて播種し、5% CO_2 、 37°C 、湿度 100% にて 5 日間培養した。培養 5 日後にリン酸塩緩衝生理食塩水で洗浄した後エタノール/アセトン (1:1) 溶液で細胞を室温にて 1 分間固定し、破骨細胞形成を酸性ホスファターゼ活性測定キット (Acid Phosphatase, Leucocyte、カタログ No.387-A, シグマ社) を用いた染色で検出した。酒石酸存在下での酸性ホスファターゼ活性陽性細胞数を計測し、その減少を OCIF 活性とした。結果を表 9 に示す。

第 9 表 IL-11 で誘導される酒石酸存在下での
酸性ホスファターゼ活性陽性細胞数

| 濃度 (ng/ml) | 500 | 125 | 31 | 7.8 | 2.0 | 0.5 | 0 |
|------------|-----|-----|----|-----|-----|-----|----|
| nOCIF | 0 | 0 | 1 | 4 | 13 | 49 | 31 |
| rOCIF(E) | 0 | 0 | 1 | 3 | 10 | 37 | 31 |

nOCIF 及び rOCIF(E) とともに、 2ng/ml 以上の濃度で容量依存的に IL-11 で誘導される破骨細胞形成を抑制する活性が見られた。

このように種々の標的細胞を用いた破骨細胞形成の試験系において、OCIF はビタミン D_3 、PTH、及び IL-11 等の破骨細胞形成誘導因子による破骨細胞の形成をほぼ同じ濃度で抑制することが明らかになった。従って、OCIF はこのような様々な骨吸収促進物質で誘導される異なるタイプの骨量減少症の治療に、効果的に使用出来る可能性が示唆された。

〔実施例 17〕

モノマー型及びダイマー型 OCIF サンプルの調製

rOCIF(E) 及び rOCIF(C) それぞれ $100 \mu\text{g}$ を含むサンプルに、1/100 容量の 25% TFA (トリフルオロ酢酸) を加えた後、0.1% TFA を含む 30% アセトニトリルで平衡化した逆相カラム (PROTEIN-RP、 $2.0 \times 250\text{mm}$ 、ワイエムシー社) にか、50 分間でアセトニトリルを 55% にする直線勾配、流速 0.2ml/分 にて溶出を行い、各 OCIF ピークを分取した。得られたピーク画分を凍結乾燥すること

により、モノマー型OCIF及びダイマー型OCIFを得た。

〔実施例18〕

組み換え型OCIFの分子量測定

実施例3-vi)の方法で逆相カラムを用いて精製したモノマー型及びダイマー型nOCIFと実施例17記載の方法で精製したモノマー型及びダイマー型rOCIF約1 μ gを含むサンプルを減圧濃縮した。これらのサンプルにつき、実施例4の方法でSDS処理、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動、及び銀染色を行った。非還元条件下及び還元条件下で電気泳動した結果を、図6及び図7にそれぞれ示す。

その結果、非還元条件下では、何れのモノマー型サンプルでも60kDの蛋白質バンドが検出され、又、何れのダイマー型サンプルでも120kDの蛋白質バンドが検出された。又、還元条件下では何れのサンプルでも約60kDの蛋白質バンドのみが検出された。従って、IMR-90細胞由来nOCIF、293/EBNA細胞由来組み換え型OCIF、及びCHO細胞由来組み換え型OCIFの各々のモノマー型とダイマー型の分子量はほぼ同一であることが示された。

〔実施例19〕

IMR-90細胞由来天然型OCIFと組み換え型OCIFのN-結合型糖鎖の除去と分子量測定

実施例3-vi)の方法で逆相カラムを用いて精製したモノマー型及びダイマー型nOCIFと実施例17記載の方法で精製したモノマー型及びダイマー型rOCIFの各々を約5 μ g含むサンプルを減圧濃縮した。これらのサンプルに100mM 2-メルカプトエタノールを加えた50mMリン塩緩衝液、pH8.6, 9.5 μ lを加えて溶解させ、更に250U/ml N-グリカナーゼ溶液（生化学工業社）0.5 μ lを加え37℃で一日放置した。これらのサンプルに2mM MEDTA、5%SDS、及び0.02%プロモフェノールブルーを含む20mM Tris-HCl, pH8.0, 10 μ lを加え、100℃で5分間加熱した。これらのサンプルの1 μ lを実施例4の方法でSDS-ポリアクリルアミド電気泳動した後、銀染色した。結果を図8に示す。

その結果、N-グリカナーゼ処理によりN-結合糖鎖を除去したOCIF蛋白

質の還元条件下での分子量は、いずれも約40kDであることが示された。糖鎖除去の処理を行っていないIMR-90細胞由来nOCIF、293/EBNA細胞由来rOCIF、及びCHO細胞由来rOCIFの各々の還元条件下での分子量はいずれも約60kDであることから、これらのOCIFはその分子内にN-結合糖鎖を含有する糖蛋白質であることが明らかになった。

〔実施例20〕

OCIF類縁体（バリエーション）cDNAのクローニング及び塩基配列の決定

実施例10及び11で示したように、純化したいいくつかの陽性ファージのひとつからpBKCMV（ストラタジーン社）にOCIFcDNAが挿入されたプラスミドpBKOCIFを持つ形質転換株を得たが、その際、他のいくつかの陽性ファージからも長さの異なるインサートが挿入されたプラスミドを持つ形質転換株が得られた。これらのプラスミドを持つ形質転換株を増殖させ、常法によりプラスミドを精製した。これらのインサートDNAの塩基配列をタックダイデオキシターミネーターサイクルシーケンシングキット（パーキンエルマー社）を用いて決定した。用いたプライマーはT3、T7プライマー（ストラタジーン社）及びOCIFcDNAの塩基配列に基づいて設計された合成プライマーを用いた。オリジナルタイプのOCIF以外に、OCIFバリエーションは全部で4種類（OCIF2、3、4、5）存在した。決定されたOCIF2cDNAの塩基配列を配列番号8にその配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号9に示す。決定されたOCIF3 cDNAの塩基配列を配列番号10にその配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号11に示す。決定されたOCIF4 cDNAの塩基配列を配列番号12にその配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号13に示す。決定されたOCIF5 cDNAの塩基配列を配列番号14にその配列から推定されるアミノ酸配列を配列番号15に示す。これらのOCIFバリエーションの構造の特徴を、図9～12及び以下の記載をもって、簡単に説明する。

OCIF2

OCIFcDNAの塩基配列（配列番号6）の265番目のグアニンから285番目のグアニンまでの21bpの欠失があり、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列（配列表配列番号5）の68番目のグルタミン酸（Glu）から74番目のグルタミン（G

1 n) までの7アミノ酸の欠失がある。

OCIF3

OCIFcDNAの塩基配列(配列番号6)の9番目のシチジンがグアニンに変換していて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の-19番目のアスパラギン(Asn)がリジン(Lys)に変わっている。但し、これはシグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF3には影響しないと思われる。

OCIFcDNAの塩基配列(配列番号6)の872番目のグアニンから989番目のグアニンまでの117bpの欠失があり、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の270番目のスレオニン(Thr)から308番目のロイシン(Leu)までの39アミノ酸の欠失がある。

OCIF4

OCIFcDNAの塩基配列(配列番号6)の9番目のシチジンがグアニンに変換していて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の-19番目のアスパラギン(Asn)がリジン(Lys)に変わっている。又、22番目のグアニンがチミジンに変換していて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の-14番目のアラニン(Ala)がセリン(Ser)に変わっている。但し、これらはシグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF4には影響しないと思われる。

OCIFcDNAの塩基配列(配列番号6)の400番目と401番目の間に約4kbのイントロン2の挿入があり、オープンリーディングフレームがその中で止まる。アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の112番目のアラニン(Ala)の後に21アミノ酸からなる新規なアミノ酸配列が付加されている。

OCIF5

OCIFcDNAの塩基配列(配列番号6)の9番目のシチジンがグアニンに変換していて、アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列(配列表配列番号5)の-19番目のアスパラギン(Asn)がリジン(Lys)に変わっている。但し、これはシグナル配列の中のアミノ酸置換であり、分泌されるOCIF5には影響しない

と思われる。

OCIFcDNAの塩基配列（配列番号6）の400番目と401番目の間に約1.8 kbのイントロン2の後半部分の挿入があり、オープンリーディングフレームがその中で止まる。アミノ酸配列ではOCIFのアミノ酸配列（配列表配列番号5）の112番目のアラニン（A1a）の後に12アミノ酸からなる新規なアミノ酸配列が付加されている。

〔実施例21〕

OCIF類縁体（バリエント）の生産

i) OCIFバリエントcDNAの発現プラスミドの作製

実施例20で得られたOCIFバリエントcDNAのうち、OCIF 2, 3 のcDNAがそれぞれ挿入されたプラスミドpBKOCIF2、pBKOCIF3を制限酵素XhoI及びBamHI（宝酒造社）で消化し、OCIF 2及び3 のcDNAをそれぞれ切り出し、アガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。これらのOCIF 2及び3 のcDNAを、あらかじめ制限酵素XhoI及びBamHI（宝酒造社）で消化しておいた発現プラスミドpCEP4（インヴィトロジェン社）に、ライゲーションキット Ver.2（宝酒造社）を用いて挿入し、大腸菌 DH5 α （ギブコBRL社）の形質転換を行った。

又、実施例20で得られたOCIFバリエントcDNAのうち、OCIF4 のcDNAを挿入されたプラスミドpBKOCIF4を制限酵素SpeI及びXhoI（宝酒造社）で消化し、アガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精製した。この OCIF4のcDNAを、あらかじめ制限酵素NheI及びXhoI（宝酒造社）で消化しておいた発現プラスミドpCEP4（インヴィトロジェン社）に、ライゲーションキット Ver.2（宝酒造社）を用いて挿入し、大腸菌 DH5 α （ギブコBRL社）の形質転換を行った。

又、実施例20で得られたOCIFバリエントcDNAのうち、OCIF5 のcDNAを挿入されたプラスミドpBKOCIF5を制限酵素Hind III（宝酒造社）で消化し、OCIF5cDNA のコーディング領域の5'領域を切り出し、アガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット（キアゲン社）を用いて精

製した。実施例 13-i) で得られた OCIF 発現プラスミド pCEPOCIF を制限酵素 Hind III (宝酒造社) で消化し、OCIFcDNA のコーディング領域の 5' 領域を取り除き、pCEP プラスミドと OCIFcDNA の 3' 領域を含んだ DNA 断片 pCEPOCIF-3' をアガロース電気泳動によって分離後、QIAEX ゲルエクストラクションキット (キアゲン社) を用いて精製した。この OCIF5 cDNA の Hind III 断片を pCEPOCIF-3' にライゲーションキット Ver.2 (宝酒造社) を用いて挿入し、大腸菌 DH5 α (ギブコ BRL 社) の形質転換を行った。

得られた形質転換株を増殖させ、OCIF2, 3, 4, 5 の cDNA が挿入された発現プラスミド pCEPOCIF 2, 3, 4, 5 を、キアゲンカラム (キアゲン社) を用いて精製した。OCIF バリエント発現プラスミドをエタノールによって沈澱させた後、無菌蒸留水に溶解し以下の操作に用いた。

ii) OCIF バリエント cDNA のトランジェントな発現及びその活性の測定

実施例 21-i) で得られた OCIF バリエント発現プラスミド pCEPOCIF 2, 3, 4, 5 を用いて、実施例 13-ii) で述べた方法で OCIF バリエントをトランジェントに発現させ、それらの活性を調べた。その結果、これらの OCIF バリエントに弱い活性を認めた。

[実施例 22]

OCIF 変異体の作製

i) OCIF 変異体 cDNA サブクローニング用プラスミドベクターの作製

実施例 11 記載のプラスミドベクター 5 μ g を、制限酵素 BamHI 及び XhoI (宝酒造社) で切断した。切断した DNA を調製用アガロースゲル電気泳動に供した。OCIFcDNA 全長を含む約 1.6 キロベースペア (kb) の DNA 断片を単離し、QIAEX ゲルエクストラクションキット (キアゲン社) により精製し、20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した DNA 溶液 1 を得た。次に、pBluescript IISK⁺ (ストラタジーン社) 3 μ g を制限酵素 BamHI 及び XhoI (宝酒造社) で切断した。切断した DNA を調製用アガロースゲル電気泳動に供した。約 3.0 kb の DNA 断片を単離し、QIAEX ゲルエクストラクションキット (キアゲン社) により精製し、20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した DNA 溶液 2 を得た。1 μ l の DNA 溶液 2 と 4

μ l の DNA 溶液 1 を混合し、 5μ l の DNA ライゲーションキット ver.2 I 液（宝酒造社）を添加し混合後、 16°C で 30 分間保温し、ライゲーション反応を行った。尚、以下のライゲーション反応は全て 16°C 30 分の保温条件で行った。

このライゲーション反応液を用い、以下の条件で大腸菌の形質転換を行った。尚、以後大腸菌の形質転換は以下の条件で行った。このライゲーション反応液 5μ l と大腸菌 DH5 α コンピテント細胞（ギブコ BRL 社） 100μ l とを 15ml 用滅菌チューブ（岩城ガラス社）中で混合し、氷水中 30 分放置した。 42°C 45 秒保温後、 250μ l の L 培地（1%トリプトン、0.5%イーストエキストラクト、1% NaCl）を添加し攪拌しながら 37°C で培養した。 50μ l の菌液を $50 \mu\text{g/ml}$ アンピシリンを含む 2 ml の L 寒天培地上にスプレッドした。 37°C で一晩培養し、生育してきたコロニー 6 種を 2 ml の L アンピシリン液体培地でさらに一晩培養し、各株が持つプラスミドの構造を調べた。pBluescript IISK⁺ の BamHI XhoI 切断部位に OCIFcDNA 全長を含む約 1.6kb の DNA 断片が挿入された構造を持つプラスミド（以後 pSK⁺-OCIF と呼ぶ）を得た。

ii) Cys を Ser に置換した変異体の作製

(1) 変異の導入

配列表配列番号 4 に記載のアミノ酸配列中、174, 181, 256, 298 及び 379 番の Cys 残基を Ser 残基に置換した変異体を作製した。174Cys を Ser に置換した変異体を OCIF-C19S、181Cys を Ser に置換した変異体を OCIF-C20S、256Cys を Ser に置換した変異体を OCIF-C21S、298Cys を Ser に置換した変異体を OCIF-C22S、379 Cys を Ser に置換した変異体を OCIF-C23S2 と、それぞれ名付けた。変異体作製のためにまず、各 Cys 残基をコードする塩基配列を Ser 残基をコードする塩基配列に置換した。変異導入は二段階の PCR (polymerase chain reaction) により行った。以後、二段階 PCR 反応と呼ぶ。第一段階は 2 つの PCR 反応より成る (PCR1 及び PCR2)。

P C R 1 反応液

| | | |
|-------------------------------|--------|---------|
| 10X Ex Taq バッファー (宝酒造社) | 1 0 | μ l |
| 2.5 mM dNTP 溶液 | 8 | μ l |
| 実施例 1 1 記載のプラスミドベクター (8ng/ml) | 2 | μ l |
| 滅菌蒸留水 | 7 3. 5 | μ l |
| 2 0 μ M プライマー 1 | 5 | μ l |
| 1 0 0 μ M プライマー 2 (変異導入用) | 1 | μ l |
| Ex Taq (宝酒造社) | 0. 5 | μ l |

P C R 2 反応液

| | | |
|-------------------------------|--------|---------|
| 10X Ex Taq バッファー (宝酒造社) | 1 0 | μ l |
| 2.5 mM dNTP 溶液 | 8 | μ l |
| 実施例 1 1 記載のプラスミドベクター (8ng/ml) | 2 | μ l |
| 滅菌蒸留水 | 7 3. 5 | μ l |
| 2 0 μ M プライマー 3 | 5 | μ l |
| 1 0 0 μ M プライマー 4 (変異導入用) | 1 | μ l |
| Ex Taq (宝酒造社) | 0. 5 | μ l |

各変異導入時には、プライマーの種類だけを変え、他の反応組成は同一とした。各反応で用いたプライマーを表10に、その配列を配列表配列番号20、23、27、30～40に示す。P C R 1 反応液及びP C R 2 反応液をそれぞれ別の微量遠心チューブに入れ混合後、以下の条件でP C Rを行った。97℃で3分処理後、95℃1分、55℃1分、72℃3分の3段階の反応を25回繰り返したのち、70℃5分保温した。反応液の一部をアガロース電気泳動に供し、目的の長さのDNA断片が合成されていることを確認した。第一段階P C R反応終了後、アミコンマイクロコン (アミコン社) により反応液からプライマーを除去し、滅菌蒸留水により最終液量を50 μ l に調製し、得られたDNA断片を用いさらに第2段階P C R反応 (P C R 3) を行った。

P C R 3 反 応 液

| | | |
|------------------------|--------|---------|
| 10X Ex Taqバッファー (宝酒造社) | 1 0 | μ l |
| 2.5 mM dNTP 溶液 | 8 | μ l |
| P C R 1 により得られたDNA断片 | 5 | μ l |
| P C R 2 により得られたDNA断片 | 5 | μ l |
| 滅菌蒸留水 | 6 1. 5 | μ l |
| 20 μ M プライマー 1 | 5 | μ l |
| 20 μ M プライマー 3 | 5 | μ l |
| Ex Taq (宝酒造社) | 0. 5 | μ l |

第 1 0 表

| 変異体名 | プライマー1 | プライマー2 | プライマー3 | プライマー4 |
|-----------|--------|--------|--------|--------|
| OCIF-C19S | IF 10 | C19SR | IF 3 | C19SF |
| OCIF-C20S | IF 10 | C20SR | IF 3 | C20SF |
| OCIF-C21S | IF 10 | C21SR | IF 3 | C21SF |
| OCIF-C22S | IF 10 | C22SR | IF 14 | C22SF |
| OCIF-C23S | IF 6 | C23SR | IF 14 | C23SF |

上記の溶液を微量遠心チューブに入れ混合後、P C R 1、P C R 2 と同一の条件でP C Rを行った。反応液の一部をアガロース（1 %或いは1.5 %）電気泳動に供し、目的の長さのDNA断片が合成されていることを確認した。P C Rにより得られたDNAをエタノールにより沈殿させ、真空中で乾燥させ、40 μ l の滅菌蒸留水に溶解した。C19S変異DNA断片を含む溶液を溶液A、C20S変異DNA断片を含む溶液を溶液B、C21S変異DNA断片を含む溶液を溶液C、C22S変異DNA断片を含む溶液を溶液D、C23S変異DNA断片を含む溶液を溶液Eと名付けた。

溶液A 20 μ l 中のDNA断片を制限酵素NdeI及びSphI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約400bp のDNA断片を分離・精製し20 μ l の蒸留

水に溶解した（DNA溶液3）。次に、2 μ g のpSK⁺-OCIFを制限酵素NdeI及びSphI（宝酒造社）により切断し、調製用電気泳動により約4.2kbのDNA断片を分離・精製し20 μ lの滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液4）。2 μ lのDNA溶液3と3 μ lのDNA溶液4を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液5 μ lを添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ lを用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-C19Sと名付けた。

溶液B 20 μ l中のC20S変異DNA断片を制限酵素NdeI及びSphI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約400bpのDNA断片を分離・精製し20 μ lの蒸留水に溶解した（DNA溶液5）。2 μ lのDNA溶液5と3 μ lのDNA溶液4を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液5 μ lを添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ lを用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-C20Sと名付けた。

溶液C 20 μ l中のDNA断片を制限酵素NdeI及びSphI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約400bpのDNA断片を分離・精製し20 μ lの蒸留水に溶解した（DNA溶液6）。2 μ lのDNA溶液6と3 μ lのDNA溶液4を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液5 μ lを添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ lを用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-C21Sと名付けた。

溶液 D 20 μ l 中の DNA 断片を制限酵素 NdeI 及び BstPI (宝酒造社) により切断した。調製用電気泳動により約 600bp の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の蒸留水に溶解した (DNA 溶液 7)。次に、2 μ g の pSK⁺-OCIF を制限酵素 NdeI 及び BstPI (宝酒造社) により切断し、調製用電気泳動により約 4.0kb の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の蒸留水に溶解した (DNA 溶液 8)。2 μ l の DNA 溶液 7 と 3 μ l の DNA 溶液 8 を混合し、さらに DNA ライゲーションキット ver.2 I 液 5 μ l を添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液 5 μ l を用い、大腸菌 DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA 構造の解析により目的のプラスミド DNA を持つ株を選びだした。DNA 構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミド DNA を pSK-OCIF-C22S と名付けた。

溶液 E 20 μ l 中の DNA 断片を制限酵素 BstPI 及び EcoRV (宝酒造社) により切断した。調製用電気泳動により約 120bp の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した (DNA 溶液 9)。次に、2 μ g の pSK⁺-OCIF を制限酵素 BstEII 及び EcoRV (宝酒造社) により切断し、調製用電気泳動により約 4.5kb の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の蒸留水に溶解した (DNA 溶液 10)。2 μ l の DNA 溶液 9 と 3 μ l の DNA 溶液 10 を混合し、さらに DNA ライゲーションキット ver.2 I 液 5 μ l を添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液 5 μ l を用い、大腸菌 DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA 構造の解析により目的のプラスミド DNA を持つ株を選びだした。DNA 構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミド DNA を pSK-OCIF-C23S と名付けた。

(2) 変異体発現ベクターの構築

得られた目的のプラスミド DNA (pSK-OCIF-C19S, pSK-OCIF-C20S, pSK-OCIF-C21S, pSK-OCIF-C22S, pSK-OCIF-C23S) を制限酵素 BamHI 及び XhoI (宝酒造社) で切断し、OCIFcDNA 全長を含む約 1.6kb の DNA 断片 (目的の変異も含む) を分離・

精製し、滅菌蒸留水 20 μ l に溶解した。それぞれC19SDNA 溶液、C20SDNA 溶液、C21SDNA 溶液、C22SDNA 溶液、C23SDNA 溶液と名付けた。次に、発現ベクター-pCEP4(インヴィトロジェン社) 5 μ g を制限酵素BamHI 及びXhoI(宝酒造社)で切断し、約10 kb のDNAを分離・精製し滅菌蒸留水40 μ l に溶解した(pCEP4DNA 溶液)。pCEP4DNA溶液 1 μ l と各 6 μ l のC19SDNA 溶液、C20SDNA 溶液、C21SDNA 溶液、C22SDNA 溶液、C23SDNA 溶液を別々に混合し、各混合液に 7 μ l のDNAライゲーションキット Ver.2 I液を添加し、ライゲーション反応を行った。反応終了後、7 μ l の反応液を用い、大腸菌DH5 α コンピテント細胞液100ml を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、pCEP4のXhoI、BamHI 部位に約1.6kb の各DNA断片が挿入された目的の構造のプラスミドDNAを持つ株計5種を選びだし、それぞれ、pCEP4-OCIF-C19S, pCEP4-OCIF-C20S, pCEP4-OCIF-C21S, pCEP4-OCIF-C22S, pCEP4-OCIF-C23S と名付けた。

ii) ドメイン欠失変異体の作製

(1) ドメイン欠失変異の導入

配列番号4に記載したアミノ酸中、2番のThr から42番のAla まで、43番のPro から84番のCysまで、85番のGlu から122番のLys まで、123番のArg から164番のCysまで、177番のAsp から251番のGln まで、253番のIle から326番のHis までを、それぞれ欠失させた変異体を作製した。2番のThr から42番のAla までを欠失させた変異体をOCIF-DCR1、43番のPro から84番のCysまでを欠失させた変異体をOCIF-DCR2、85番のGlu から122番のLys までを欠失させた変異体をOCIF-DCR3、123番のArg から164番のCysまでを欠失させた変異体をOCIF-DCR4、177番のAsp から251番のGln までを欠失させた変異体をOCIF-DDD1、253番Ile から326番のHis までを欠失させた変異体をOCIF-DDD2 と、それぞれ名付けた。ドメイン欠失変異の導入も、実施例22-ii)に記載の二段階PCR法によって行った。各変異導入反応時に用いたプライマーを表11に、その配列を配列表配列番号19、25、40～53、及び54に示す。

第 1 1 表

| 変異体名 | プライマー-1 | プライマー-2 | プライマー-3 | プライマー-4 |
|-----------|---------|---------|---------|---------|
| OCIF-DCR1 | XhoI F | DCR1R | IF 2 | DCR1F |
| OCIF-DCR2 | XhoI F | DCR2R | IF 2 | DCR2F |
| OCIF-DCR3 | XhoI F | DCR3R | IF 2 | DCR3F |
| OCIF-DCR4 | XhoI F | DCR4R | IF 16 | DCR4F |
| OCIF-DDD1 | IF 8 | DDD1R | IF 14 | DDD1F |
| OCIF-DDD2 | IF 8 | DDD2R | IF 14 | DDD2F |

P C Rにより得られたDNAをエタノールにより沈殿させ真空中で乾燥させ、40 μ lの滅菌蒸留水に溶解した。DCR1変異DNA断片を含む溶液を溶液F、DCR2変異DNA断片を含む溶液を溶液G、DCR3変異DNA断片を含む溶液を溶液H、DCR4変異DNA断片を含む溶液を溶液I、DDD1変異DNA断片を含む溶液を溶液J、DDD2変異DNA断片を含む溶液を溶液Kと名付けた。

溶液F 20 μ l中のDNA断片を制限酵素NdeI及びXhoI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約500bpのDNA断片を分離・精製し20 μ lの滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液11）。次に、2 μ gのpSK⁺-OCIFを制限酵素NdeI及びXhoI（宝酒造社）により切断し、調製用電気泳動により約4.0kbのDNA断片を分離・精製し20 μ lの滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液12）。2 μ lのDNA溶液11と3 μ lのDNA溶液12を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液5 μ lを添加しライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ lを用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により、OCIFcDNAに目的の変異の導入されたプラスミドDNAを持つ株を選び出した。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-DCR1と名付けた。溶液G 20 μ l中のDNA断片を制限酵素NdeI及びXhoI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約500bpのDNA断片を分離・精製し20 μ lの滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液13）。2 μ lのDNA溶液13と3 μ lのDNA溶液12を混合し、さらにD

NAライゲーションキットver.2 I液を5 μ l 添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ l を用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-DCR2 と名付けた。

溶液H 20 μ l 中のDNA断片を制限酵素NdeI及びXhoI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約500bp のDNA断片を分離・精製し20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液14）。2 μ l のDNA溶液14と3 μ l のDNA溶液12を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液を5 μ l 添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ l を用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により、OCIF c DNAに目的の変異の導入されたプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-DCR3 と名付けた。

溶液I 20 μ l 中のDNA断片を制限酵素XhoI及びSphI（宝酒造社）により切断した。調製用電気泳動により約900bp のDNA断片を分離・精製し20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液15）。次に、2 μ g のpSK⁺-OCIFを制限酵素XhoI及びSphI（宝酒造社）により切断し、調製用電気泳動により約3.6kb のDNA断片を分離・精製し20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した（DNA溶液16）。2 μ l のDNA溶液15と3 μ l のDNA溶液16を混合し、さらにDNAライゲーションキットver.2 I液5 μ l を添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液5 μ l を用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-DCR4 と名付けた。

溶液 J 20 μ l 中の DNA 断片を制限酵素 BstPI 及び NdeI (宝酒造社) により切断した。調製用電気泳動により約 400bp の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した (DNA 溶液 17)。2 μ l の DNA 溶液 17 と 3 μ l の DNA 溶液 8 を混合し、さらに DNA ライゲーションキット ver. 2 I 液を 5 μ l 添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液 5 μ l を用い、大腸菌 DH 5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA 構造の解析により目的のプラスミド DNA を持つ株を選び出した。DNA 構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミド DNA を pSK-OCIF-DDD1 と名付けた。

溶液 K 20 μ l 中の DNA 断片を制限酵素 BstPI 及び NdeI (宝酒造社) により切断した。調製用電気泳動により約 400bp の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した (DNA 溶液 18)。2 μ l の DNA 溶液 18 と 3 μ l の DNA 溶液 8 を混合し、さらに DNA ライゲーションキット ver. 2 I 液を 5 μ l 添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液 5 μ l を用い、大腸菌 DH 5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA 構造の解析により目的のプラスミド DNA を持つ株を選び出した。DNA 構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミド DNA を pSK-OCIF-DDD2 と名付けた。

(2) 変異体発現ベクターの構築

得られた目的のプラスミド DNA (pSK-OCIF-DCR1, pSK-OCIF-DCR2, pSK-OCIF-XR3, pSK-OCIF-DCR4, pSK-OCIF-DDD1, pSK-OCIF-DDD2) を制限酵素 BamHI 及び XhoI (宝酒造社) で切断し OCIFcDNA 全長を含む約 1.4-1.5 kb の DNA 断片 (目的の変異も含む) を分離・精製し、滅菌蒸留水 20 μ l に溶解した。それぞれを DCR1DNA 溶液、DCR2DNA 溶液、DCR3DNA 溶液、DCR4DNA 溶液、DDD1DNA 溶液、DDD2DNA 溶液と名付けた。実施例 22-ii) に記載の pCEP4 DNA 溶液 1 μ l と各 6 μ l の DCR1DNA 溶液、DCR2DNA 溶液、DCR3DNA 溶液、DCR4DNA 溶液、DDD1DNA 溶液、DDD2DNA 溶液を別々に混合し、各混合液に 7 μ l の DNA ライゲーションバッファーを添加し、ライゲーション反応を行った。反応終了後、7 μ l の反応液を用い、大腸

菌 D H 5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から pCEP4 BamHI XhoI 部位に各 1.4-1.5kb 断片が挿入された構造のプラスミド DNA を持つ株計 6 種を選びだした。目的の構造を持つプラスミドをそれぞれ pCEP4-OCIF-DCR1、pCEP4-OCIF-DCR2、pCEP4-OCIF-DCR3、pCEP4-OCIF-DCR4、pCEP4-OCIF-DDD1、pCEP4-OCIF-DDD2 と名付けた。

iii) C 末端ドメイン欠失変異体の作製

(1) C 末端ドメイン欠失変異の導入

配列番号 4 に記載したアミノ酸中、379 番の Cys と 380 番の Leu、331 番の Ser から 380 番の Leu まで、252 番の Asp から 380 番の Leu まで、177 番の Asp から 380 番の Leu まで、123 番の Arg から 380 番の Leu まで、86 番の Cys から 380 番の Leu までを、それぞれ欠失させた変異体を作製した。379 番の Cys と 380 番の Leu を欠失させた変異体を OCIF-CL、331 番の Ser から 380 番の Leu までを欠失させた変異体を OCIF-CC、252 番の Asp から 380 番の Leu までを欠失させた変異体を OCIF-CDD2、177 番の Asp から 380 番の Leu までを欠失させた変異体を OCIF-CDD1、123 番の Arg から 380 番の Leu までを欠失させた変異体を OCIF-CCR4、86 番の Cys から 380 番の Leu までを欠失させた変異体を OCIF-CCR3 と、それぞれ名付けた。

変異体 OCIF-CL の作製用の変異導入は、実施例 22-ii) に記載の二段階 PCR 法によって行った。変異導入反応時に用いたプライマーを表 12 に、その塩基配列を配列表配列番号 23、40、55 及び 56 に示す。PCR により得られた DNA をエタノールにより沈殿させ、真空中で乾燥させ、40 μ l の滅菌蒸留水に溶解した (溶液 L)。

溶液 L 20 μ l 中の DNA 断片を制限酵素 BstPI 及び EcoRV (宝酒造社) により切断した。調製用電気泳動により約 100bp の DNA 断片を分離・精製し 20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した (DNA 溶液 19)。次に、2 μ l の DNA 溶液 9 と 3 μ l の実施例 22-ii) 記載の DNA 溶液 10 を混合し、さらに DNA ライゲーションキット ver.2 I 液を 5 μ l 添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液 5 μ l を用い、大腸菌 D H 5 α を形質転換した。得られたアンピシ

リン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選びだした。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSk-OCIF-CLと名付けた。変異体OCIF-CC、変異体OCIF-CDD2、変異体OCIF-CDD1、変異体をOCIF-CCR4、変異体OCIF-CCR3 作製用の変異導入には、一段階のPCR法を用いた。以下に反応条件を示す。

C末端ドメイン欠失変異導入用PCR 反応液

| | | |
|-----------------------------|------|---------|
| 10X Ex Taq バッファー (宝酒造社) | 10 | μ l |
| 2.5 mM dNTP 溶液 | 8 | μ l |
| 実施例11記載のプラスミドベクター (8ng/ml) | 2 | μ l |
| 滅菌蒸留水 | 73.5 | μ l |
| 20 μ M プライマー OCIF Xho F | 5 | μ l |
| 100 μ M 変異導入用プライマー | 1 | μ l |
| Ex Taq (宝酒造社) | 0.5 | μ l |

第12表

| 変異体名 | プライマー1 | プライマー2 | プライマー3 | プライマー4 |
|---------|--------|--------|--------|--------|
| OCIF-CL | IF 6 | CL R | IF 14 | CL F |

各変異導入時には、プライマーの種類だけを変え、他の反応組成は同一とした。各反応での変異導入用プライマーを表13に、その配列を配列表配列番号57～61に示す。PCR反応液を微量遠心チューブに入れ混合後、以下の条件でPCRを行った。97℃で3分処理後、95℃30秒、50℃30秒、70℃3分の3段階の反応を25回繰り返したのち、70℃5分保温した。反応液の一部をアガロース電気泳動に供し、目的の長さのDNA断片が合成されていることを確認した。反応液からアミコン・マイクロコンによりプライマーを除去し、DNAをエタノールにより沈殿させ

真空中で乾燥させ、40 μ l の滅菌蒸留水に溶解した。各変異DNA断片を含む溶液20 μ l 中のDNA断片を制限酵素XhoI及びBamHIによりDNAを切断した。酵素切断終了後、DNAをエタノールにより沈殿させ真空中で乾燥させ、20 μ l の滅菌蒸留水に溶解した。溶液をそれぞれCCDNA 溶液、CDD2DNA 溶液、CDD1DNA 溶液、CCR4DNA 溶液、CCR3DNA 溶液と名付けた。

第13表

| 変異体名 | 変異導入用プライマー |
|-----------|------------|
| OCIF-CC | CC R |
| OCIF-CDD2 | CDD2 R |
| OCIF-CDD1 | CDD1 R |
| OCIF-CCR4 | CCR4 R |
| OCIF-CCR3 | CCR3 R |

(2) 変異体発現ベクターの構築

pSK-OCIF-CL を制限酵素BamHI 及びXhoI (宝酒造社) で切断し、OCIFcDNAを含む約1.5 kbのDNA断片 (目的の変異も含む) を分離・精製し、滅菌蒸留水20 μ l に溶解した (CLDNA 溶液)。実施例22-ii) に記載のpCEP4 DNA 溶液1 μ l と各6 μ l のCLDNA 溶液、CCDNA 溶液、CDD2DNA 溶液、CDD1DNA 溶液、CCR4DNA 溶液、CCR3DNA 溶液を別々に混合し、7 μ l のDNAライゲーションキット Ver.2 I液を添加し、ライゲーション反応を行った。反応終了後、7 μ l の反応液を用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から目的の変異を持つOCIFcDNA断片がpCEP4 のXhoI-BamHI部位に挿入された構造のプラスミドDNAを持つ株計6種を選び出した。目的の構造を持つプラスミドをそれぞれ、pCEP4-OCIF-CL, pCEP4-OCIF-CC, pCEP4-OCIF-CDD2, pCEP4-OCIF-CDD1, pCEP4-OCIF-CCR4, pCEP4-OCIF-CCR3と名付けた。

iv) C末端欠失変異体の作製

(1) C末端欠失変異の導入

配列番号4に記載したアミノ酸中、371番Glnから380番Leuまでを欠失させLeu-Valの2残基を付加した変異体(OCIF-CBst)、298番Cysから380番Leuまでを欠失させSer-Leu-Aspの残基を付加した変異体(OCIF-CSph)、167番Asnから380番Leuまでを欠失させた変異体(OCIF-CBsp)、62番Cysから380番Leuまでを欠失させLeu-Valの2残基を付加した変異体(OCIF-CPst)を作製した。各2 μ gのpSK⁺-OCIFを制限酵素BstPI、SphI、PstI(宝酒造社)、及びBspEI(ニューイングランドバイオラボ社)で切断し、フェノール処理、エタノール沈殿によりDNAを精製し、10 μ lの滅菌蒸留水に溶解した。各2 μ lの溶液を用いDNAブランチングキット(宝酒造社)により各DNAの末端を平滑化した(最終容量5 μ l)。この反応液に、アンバーコドンを含むXbaIリンカー(5'-CTAGTCTAGACTAG-3')1 μ g(1 μ l)と、6 μ lのDNAライゲーションキットver.2 I液を添加し、ライゲーション反応を行った。反応後のライゲーション溶液6 μ lを用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から、DNA構造の解析により目的のプラスミドDNAを持つ株を選び出した。DNA構造は、制限酵素切断により得られる断片の長さの測定及び塩基配列の決定により解析した。得られた目的のプラスミドDNAをpSK-OCIF-CBst、pSK-OCIF-CSph、pSK-OCIF-CBsp、pSK-OCIF-CPstと名付けた。

(2) 変異体発現ベクターの構築

得られたプラスミドDNA(pSK-OCIF-CBst、pSK-OCIF-CSph、pSK-OCIF-CBsp、pSK-OCIF-CPst)を制限酵素BamHI及びXhoI(宝酒造社)で切断し、OCIFcDNA全長を含む約1.5キロベースペア(kb)のDNA断片(目的の変異も含む)を分離・精製し、滅菌蒸留水20 μ lに溶解した(それぞれCBstDNA溶液、CSphDNA溶液、CBspDNA溶液、CPstDNA溶液と名付けた)。実施例22-ii)に記載のpCEP4 DNA溶液1 μ lと各6 μ lのCBstDNA溶液、CSphDNA溶液、CBspDNA溶液、CPstDNA溶液を別々に混合し、各混合液に7 μ lのDNAライゲーションキットVer.2 I液を添加し、ライゲーション反応を行った。反応終了後、7 μ lの反応液を用い、大腸菌DH5 α を形質転換した。得られたアンピシリン耐性形質転換細胞から目的の変異を持つOCIFcDNA断片がpCEP4のXhoI BamHI部位間に挿入された構造のプ

ラスミドDNAを持つ株計5種を選びだした。目的の構造を持つプラスミドをそれぞれ、pCEP4-OCIF-CBst, pCEP4-OCIF-CSph, pCEP4-OCIF-CBsp, pCEP4-OCIF-CPstと名付けた。

v) 変異体発現ベクターの調製

変異体発現ベクターを持つ大腸菌(計21種類)を増殖させ、各種変異体発現ベクターをキアゲンカラム(キアゲン社)を用いて精製した。各発現ベクターはエタノールによって沈殿させた後、滅菌蒸留水に溶解し以下の操作に用いた。

vi) 変異体cDNAのトランジェントな発現及びその活性の測定

実施例22-v)で精製した各種OCIF変異体発現プラスミドを用い、実施例13の方法に従いOCIF変異体を発現させた。以下に変更した点のみを記する。DNA導入には24ウェルプレートを用いた。 2×10^5 個の293/EbNA細胞を10%牛胎児血清を含むIMDM培地を用いて各ウェルに植え込んだ。DNA導入の際用いた変異体発現ベクターとリポフェクタミンの量は、それぞれ $1 \mu\text{g}$ 及び $4 \mu\text{l}$ であった。OPTI-MEM培地(ギブコBRL社)で希釈し最終容量を 0.5ml とした。変異体発現ベクターとリポフェクタミンの混合液を細胞に添加し、24時間 37°C で CO_2 インキュベーター中で培養した後混合液を除去し、 0.5ml のEx-cell 301培地(JSR社)を加え、さらに48時間 37°C で CO_2 インキュベーター中で培養した。培地を回収し、これを変異体活性測定用サンプルとした。得られた各変異体の塩基配列を配列表配列番号83~103に、その配列から推定されるアミノ酸配列を配列表配列番号62~82に、それぞれ示す。OCIFの活性測定は実施例13に従った。また、実施例24に記載のEIA法により、OCIFの抗原量を定量した。表14に未改変OCIFと比較した抗原量当たりの活性を示す。

第 1 4 表

| 変異体の名称 | 活性 |
|-----------|----|
| 未改変OCIF | ++ |
| OCIF-C19S | + |
| OCIF-C20S | ± |
| OCIF-C21S | ± |
| OCIF-C22S | + |
| OCIF-C23S | ++ |
| OCIF-DCR1 | ± |
| OCIF-DCR2 | ± |
| OCIF-DCR3 | ± |
| OCIF-DCR4 | ± |
| OCIF-DDD1 | + |
| OCIF-DDD2 | ± |
| OCIF-CL | ++ |
| OCIF-CC | ++ |
| OCIF-CDD2 | ++ |
| OCIF-CDD1 | + |
| OCIF-CCR4 | ± |
| OCIF-CCR3 | ± |
| OCIF-CBst | ++ |
| OCIF-CSph | ++ |
| OCIF-CBsp | ± |
| OCIF-CPst | ± |

(表中、++は抗原量当たりの活性が未改変OCIFの活性の50%を超える、+は10%~50%、±は10%未満又は抗原量が正確に測定できないことをそれぞれ示す)

vi) ウェスタンブロッティング解析

活性測定に用いたサンプルの10 μ l をウェスタンブロット解析に供した。サンプル10 μ l に10 μ l のSDS-PAGE用サンプルバッファー(0.5M Tris-HCl、20%グリセロール、4%SDS、20 μ g/mlブロムフェノールブルー(pH 6.8))を加え、100 $^{\circ}$ Cで3分煮沸し非還元状態で10%SDSポリアクリルアミド電気泳動を行った。泳動終了後、セミドライブロッティング装置(バイオラッド社)によりPVDFメンブレン(ProBlott[®]、パーキンエルマー社)に蛋白質をブロッティングした。そのメンブレンをブロッキング後、実施例24に記載のEIA用西洋ワサビパーオキシダーゼ標識抗OCIF抗体とともに、37 $^{\circ}$ Cで2時間保温した。洗浄後ECLシステム(アマシャム社)により抗OCIF抗体に結合する蛋白質を検出した。OCIFでは、約120 キロダルトン(kD)及び60kDのバンドが検出された。一方、OCIF-C23S、OCIF-CL、OCIF-CCでは、ほとんど60kDのバンドのみが検出された。また、OCIF-CDD2 及びOCIF-CDD1 ではそれぞれ約40-50 kD 及び30-40 kD のバンドが主要なバンドとして検出された。以上の結果より、OCIFでは、配列表配列番号4のアミノ酸配列にける379番目のCys残基が二量体形成に係わっていること、単量体でも活性を保持していること、及び177番Aspから380番Leuまでの残基を欠失させても活性を保持していることが明らかとなった。

[実施例23]

ヒトOCIFゲノムDNAの分離

I) ヒトゲノムDNAライブラリーのスクリーニング

ヒト胎盤の染色体DNAと λ FIX IIベクターを用いて作製されたゲノム・ライブラリーをストラタジーン社から購入し、これをOCIFcDNAをプローブとしてスクリーニングした。スクリーニングは、基本的にはゲノム・ライブラリーに添付されているプロトコールに従って実施したが、ファージ、大腸菌、DNAを扱う一般的な方法はMolecular Cloning: A Laboratory Manualに従って行った。

購入したゲノムDNAライブラリーのタイターを検定したのち、 1×10^6 pfuのファージを大腸菌XL1-Blue MRAに感染させ、20枚のプレート(9 \times 13cm)にプレ

ート当たり 9 ml のトップ・アガロースとともに蒔いた。プレートを一晩 37℃ でインキュベートしたのち、Hybond-N ナイロン膜（アマシャム社）をアガープレート上に乗せてファージを転写した。ファージの転写したナイロン膜を 1.5M NaCl/0.5M NaOH 溶液で湿らせた濾紙上に 1 分間乗せ、その後 1M Tris-HCl (pH7.5) と 1.5M NaCl/0.5M Tris-HCl (pH7.5) でそれぞれ 1 分ずつ処理して中和したのち、最後に 2 XSSC で湿らせた濾紙の上に移した。その後、このナイロン膜にストラタリンカー（ストラタジーン社）を用いて 1200 マイクロジュールの UV を照射することによってファージ DNA を膜に固定した。次に、このナイロン膜をラビッドハイブリダイゼーション・バッファー（アマシャム社）に浸漬してプレハイブリダイゼーションを行った。1 時間のプレハイブリダイゼーションの後、³²P 標識した OCIFcDNA を加え、65℃ にて一晩ハイブリダイゼーションを行った。この cDNA プロブは、実施例 11 で得られた 1.6kb の OCIFcDNA を有するプラスミド pBKOCIF を、制限酵素 BamHI 及び XhoI を用いて切断し、OCIFcDNA をアガロースゲル電気泳動によって単離したのち、この OCIFcDNA をメガプライム DNA ラベリングシステム（アマシャム社）を用いて ³²P で標識することによって作製した。標識は、ラベリングシステムに添付されたプロトコールに従って行った。ハイブリダイゼーションには、ハイブリダイゼーション・バッファー 1 ml 当たりおよそ 5×10^5 cpm のプロブを使用した。ハイブリダイゼーションの後、ナイロン膜を室温にて 2 XSSC で 5 分間洗浄し、その後 65℃ において 0.5 XSSC/0.1% SDS で 4 回、それぞれ 20 分ずつ洗浄した。4 回目の洗浄ののちナイロン膜を乾燥させ、富士フィルム社製 X 線フィルム、スーパーHR-H と増感スクリーンとを用いて -80℃ にてオートラジオグラフィーを行った。オートラジオグラム上に 6 個のシグナルが検出されたので、それぞれのシグナルに相当するアガープレート上の位置からトップ・アガロースを切り出し、1% のクロロホルムを添加した 0.5 ml の SM バッファーにそれぞれ浸漬して一晩放置し、ファージを抽出した。それぞれのファージ抽出液を SM バッファーで 1000 倍に希釈し、その中から 1 μ l と 20 μ l を取り、再び上記大腸菌に感染させ、トップ・アガロースとともに上記の方法でアガープレートに蒔いた。ファージをナイロン膜に転写後、上記の方法でプレハイブリダイ

ゼーション、ハイブリダイゼーション、洗浄、乾燥、オートラジオグラフィーを行った。このファージ純化の操作を当初オートラジオグラフィーで検出された6個のシグナル全部について行い、アガープレート上のすべてのファージブランクがcDNAプローブとハイブリダイズするまで繰り返した。純化されたファージのブランクを切り出し、1%クロロホルムを含むSMバッファー0.5mlに浸漬し、4℃で保存した。こうして得られた6種の純化ファージを、それぞれλOIF3, λOIF8, λOIF9, λOIF11, λOIF12, λOIF17と名付けた。

II) 制限酵素消化及びサザンブロット・ハイブリダイゼーションによるヒトOCIFゲノムDNAクローンの分析

純化された6種のファージのDNAを、Molecular Cloning: A Laboratory Manualに書かれた方法に従ってプレートリシス法によって精製した。これらのDNAを制限酵素によって消化し、得られたフラグメントをアガロース電気泳動によって分離した。またアガロース・ゲルで分離されたフラグメントを、一般的な方法でナイロン膜に転移させたのち、OCIFcDNAをプローブとしてサザンブロット・ハイブリダイゼーションを行った。これらの分析の結果、それぞれ純化された6種のファージは異なったクローンであることが判明した。制限酵素消化によって得られたDNAフラグメントのうち、OCIFcDNAとハイブリダイズするものについては、プラスミドベクターにサブクローンした後に下記の方法で塩基配列の分析を行った。

iii) ゲノムDNAクローンから制限酵素消化によって得られたDNAフラグメントのプラスミド・ベクターへのサブクローニングと塩基配列の決定

λOIF8 DNAを制限酵素EcoRIとNotIによって消化し、生じたフラグメントを0.7%アガロースゲルに供与して分離した。5.8kbのEcoRI/NotIフラグメントをQIAEX II Gel Extraction Kit(キアゲン社)を用いて添付されたプロトコールに従ってゲルから抽出した。このフラグメントを、前もってEcoRIとNotIによって切断しておいたpBluescriptII SK+ベクター(ストラタジーン社)とReady-To-Go T4 Ligase(ファルマシア社)を用いて添付のプロトコールに従ってライゲーションした。得られたリコンビナント・プラスミドを、コンピテントDH5α大腸菌

(アマシャム社)に導入した後、50 μ g/mlのアンピシリンを含有するアガロースプレート上に蒔いてプラスミドを有する大腸菌を選択した。以上のようにして作製された5.8kb EcoRI/NotIフラグメントを有するリコンビナント・プラスミドを、pBSG8-5.8 と命名した。次に、pBSG8-5.8 を制限酵素HindIII で消化して生ずる0.9 kbのDNAフラグメントをアガロースゲルで分離し、上記の方法にしたがって抽出した後、HindIII で前もって切断しておいたpBluescriptII SK-(ストラタジーン社)に挿入して、上記の方法に従ってクローニングした。この0.9kbのHindIII フラグメントを有するリコンビナント・プラスミドを、pBS8H0.9と命名した。一方、 λ 01F11のDNAをEcoRIを用いて消化して生ずる6 kb、3.6kb、及び2.6kbのフラグメントをそれぞれ単離したのち、上記と同様の方法に従ってpBluescript II SK+ベクターに挿入してクローニングした。こうして作製した6 kb、3.6 kb、及び2.6kb のEcoRI フラグメントを有するリコンビナント・プラスミドを、それぞれpBSG11-6、pBSG11-3.6、pBSG11-2.6と命名した。さらに、pBSG11-6を制限酵素HindIII によって消化することによって生ずる、2.2kb、1.1kb、1.05kbの3種のフラグメントをアガロースゲル電気泳動によって分離し、それぞれpBluescript II SK-のHindIII サイトに挿入してクローニングした。これら2.2kb、1.1kb、1.05 kb のHindIII フラグメントを有するリコンビナント・プラスミドを、それぞれpBS6H2.2、pBS6H1.1、pBS6H1.05 と命名した。ゲノムDNAの塩基配列の分析には、ABI Dyedexy Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (パーキンエルマー社)と373 DNA Sequencing System (アプライドバイオシステムズ社)を使用した。Molecular Cloning:A Laboratory Manual に書かれた方法に従ってpBSG8-5.8、pBS8H0.9、pBSG11-6、pBSG11-3.6、pBSG11-2.6、pBS6H2.2、pBS6H1.1、pBS6H1.05 を調製し、塩基配列決定用の鋳型として用いた。ヒトOC1FゲノムDNAの塩基配列を配列表配列番号104 及び105 に示す。エクソン1とエクソン2の間に介在する塩基の配列は必ずしも全部は決定されておらず、配列表配列番号104 及び105 に示された塩基配列の間に、およそ17kbのヌクレオチドが介在することが確認されている。

〔実施例 24〕

E I A による O C I F の定量i) ウサギ抗 O C I F 抗体の調製

雄性日本白色ウサギ（体重2.5 ～3.0kg、北山ラベス社より入手）3羽に、r O C I F 200 μ g/mlをフロイント完全アジュバント（DIFCO社）と等量混合してエマルジョンとしたものを、1回1mlずつ皮下免疫した。免疫は1週間隔で合計6回行い、最終免疫後10日目に全採血を行った。分離した血清から抗体を以下の様に精製した。即ち、P B S にて2倍希釈した抗血清に最終濃度40w/v %となるように硫酸アンモニウムを添加して4℃1時間放置後、8000×gで20分間遠心分離を行い、沈殿を得た。沈殿を少量のP B S に溶解し、P B S に対して4℃で透析した後、Protein G-Sepharose カラム（ファルマシア社）に負荷した。P B S にて洗浄後、0.1Mグリシン塩酸緩衝液（pH3.0）にて吸着した免疫グロブリンGを溶出し、直ちに1.5 M トリス塩酸緩衝液（pH8.7）で中性pHとした。溶出蛋白質画分をP B S に対して透析後、280nmにおける吸光度を測定し、その濃度を決定した（E_{1%}^{1cm} 13.5）。西洋ワサビパーオキシダーゼ標識した抗O C I F抗体は、マレイミド活性化パーオキシダーゼキット（ピアス社）を用いて作製した。即ち、1mgの精製抗体に80 μ gのN-スクシンイミド-S-アセチルチオ酢酸を添加し、室温で30分間反応させた。これに5mgのヒドロキシルアミンを添加して脱アセチル化した後、修飾された抗体をポリアクリルアミド脱塩カラムにて分画した。蛋白質画分を1mgのマレイミド活性化パーオキシダーゼと混合し、室温で1時間反応させ酵素標識抗体を得た。

ii) サンドイッチ E I A による O C I F の定量

96ウェルのマイクロタイタープレート（MaxiSorp Immunoplate, Nunc社）の各ウェルに、100 μ lのウサギ抗O C I F抗体（2 μ g/ml、50mM 炭酸緩衝液（pH 9.6））を添加し4℃にて一晚静置して、抗体を固相化した。P B S にて調製した25%ブロッケース（雪印乳業社）を300 μ lずつ各ウェルに添加し、37℃で1時間放置してブロッキングした後、検体（100 μ l/ウェル）を添加し室温で2時間反応させた。0.05% Tween20を含むP B S（PBST）にて3回洗浄した後、10000倍

希釈した西洋ワサビパーオキシダーゼ標識抗OCIF抗体を100 μ lずつ添加し室温で2時間インキュベートした。PBSTにて3回洗浄した後、100 μ lの酵素基質溶液(TMB、ScyTek社)を加え室温で発色させた後、反応を停止した。

450nmにおける吸光度をマイクロプレートリーダー(イムノリーダー NJ2000、日本インターメッド社)を用いて測定し、精製した組み換えOCIFを標準とした検量線から、検体のOCIF濃度を定量した。OCIFの検量線を図13に示す。

〔実施例25〕

抗OCIFモノクローナル抗体

i) ヒトOCIF抗体産生ハイブリドーマの調製

ヒト線維芽細胞IMR-90を培養し、その培養液から実施例11記載の方法でOCIFを精製した。精製OCIFを10 μ g/100 μ lの濃度になるようにPBSに溶解し、この溶液を2週間おきにBALB/cマウスに腹腔内投与し免疫した。初回及び2回目の免疫においては、等量のフロインド完全アジュバントの混合物を投与した。最終の免疫から3日目に脾臓を摘出し、Bリンパ球を分離し、マウスミエローマ細胞P3x63-AG8.653とを通常用いられているポリエチレングリコール法により細胞融合させた。ついで融合細胞を選択するためにHAT培地で培養を行うことにより、ハイブリドーマ細胞をセレクションした。次に、セレクションされた細胞がOCIF特異的抗体を産生しているか否かを確認するために、0.1M重曹溶液に溶解したOCIF溶液(10 μ g/ml)100 μ lを、96穴マイクロプレート(Nunc社)に加えて作製したソリッドフェーズELISAを用いて、ハイブリドーマ培養液中のOCIF特異的抗体の測定を行った。抗体生産が認められたハイブリドーマを限界希釈法によりクローニングを3-5回繰り返し行い、その都度上記ELISAにより抗体産生量をチェックした。得られた抗体生産株の中から、抗体生産量の高いクローンを選別した。

ii) モノクローナル抗体の生産

実施例25-i)で得た抗体生産株を、それぞれ 1×10^6 を予めプリスタン(アルドリッチケミカル社)を接種しておいたBALB/c系マウスの腹腔内に移植した。移植2週間後、蓄積した腹水を採取し、本発明のモノクローナル抗体を含む

腹水を得た。この腹水より、アフィゲルプロテインAセファロース（バイオラッド社製）を用いたアフィニティクロマトグラフィーにより精製抗体を得た。即ち、腹水を等量のバインディングバッファー（バイオラッド社）で希釈し、プロテインAカラムに負荷した後、充分量の同バッファーで洗浄した。1 g Gの溶出は、エリューションバッファー（バイオラッド社）で行った。得られた溶出液を水で透析した後、凍結乾燥を行った。得られた精製抗体をSDS-PAGEにより純度検定を行ったところ、分子量約150,000 の位置に均一なバンドを認めた。

iii) OCIFに対して高親和性を有するモノクローナル抗体の選択

実施例25-ii) で得た抗体をPBSに溶解し、ローリー法により蛋白定量を行った。ついで、各抗体を蛋白濃度が一定になるようにPBSに溶解し、この溶液を段階希釈法により希釈した。実施例25-ii) に記載のソリッドフェーズELISAを用いて、高い希釈段階までOCIFと反応するモノクローナル抗体を選別した。その結果、A1G5、E3H8、及びD2F4の3種の抗体が得られた。

iv) 抗体のサブクラスの検定

実施例25-iii) で選択した本発明の抗体のクラス及びサブクラスを、イムノグロブリンクラス及びサブクラス分析キット（アマシャム社）を用いて検定した。検定は、キットに指示されているプロトコールに従って実施した。結果を表15に示す。E3H8、A1G5、及びD2F4は、それぞれIgG₁、IgG_{2a}、及びIgG_{2b} であった。

第15表

| 抗体名 | IgG ₁ | IgG _{2a} | IgG _{2b} | IgG ₃ | IgA | IgM | κ |
|---------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----|-----|---|
| A 1 G 5 | — | + | — | — | — | — | + |
| E 3 H 8 | + | — | — | — | — | — | + |
| D 2 F 4 | — | — | + | — | — | — | + |

v) OCIFのELISAによる測定方法

実施例25-iv) で得たA1G5、E3H8、及びD2F4の3種のモノクローナル抗体を、それぞれ固相抗体と標識抗体とした。それぞれの組み合わせにより、サンドイッチELISAを構築した。抗体の標識は、マレイミド活性化パーオキシダーゼキ

ット（ピアス社）を用いて行った。各々の抗体を $10\mu\text{g/ml}$ の濃度になるように 0.1M 重曹溶液に溶解し、96穴イムノプレート（Nunc 社）の各ウエル当たり $100\mu\text{l}$ ずつそれぞれ分注し、室温で一晩放置した。次いで、各々のプレートを $1/2$ 濃度のブロックエース（雪印乳業社）でブロックし、 0.1% のTween20 を含むPBS（洗浄バッファー）で3回洗浄した。各濃度のOCIFを第一次反応バッファー（ $1/2.5$ 濃度のブロックエース及び 0.1% Tween20 を含む 0.2M トリス塩酸緩衝液、 $\text{pH } 7.4$ ）で調製した。調製した各濃度のOCIF溶液 $100\mu\text{l}$ ずつ各ウエルに加え、 37°C で3時間放置し、次いで洗浄バッファーで3回洗浄した。標識抗体の希釈には、第二次反応バッファー（ $1/4$ 濃度のブロックエース及び 0.1% の Tween20を含む 0.1M トリス塩酸緩衝液、 $\text{pH } 7.4$ ）を用いた。各標識抗体を第2次反応バッファーで400 倍に希釈し、その各々 $100\mu\text{l}$ ずつを各ウエルにそれぞれ添加した。各々のプレートを 37°C で2時間放置し、次いで3回洗浄した後、基質溶液（ 0.4mg/ml のオルトフェニレンジアミン塩酸、 0.006% 過酸化水素を含む 0.1M クエン酸－リン酸バッファー、 $\text{pH } 4.5$ ） $100\mu\text{l}$ を各ウエルに添加した。 37°C で15分間暗室に放置した後、 6N 硫酸 $50\mu\text{l}$ を各ウエルに添加することにより酵素反応を停止させ、イムノリーダー（NJ2000, 日本インターメッド社）を用いて 492nm の吸光度を測定した。3種の抗体をそれぞれ固相抗体或いは標識抗体としたいずれの組み合わせにおいても良好な測定結果が得られ、3種の抗体はそれぞれOCIFの異なるエピトープを認識することを認めた。代表例として、A1G5を固相抗体としE3H8を標識抗体としたときの検量線を図14に示す。

vi) ヒト血清中のOCIFの測定

健常人5名の血清中のOCIFを実施例25-(v)の図14のELISA系で測定した。即ち、A1G5を実施例25-(v)と同様にイムノプレートに固相化し、各ウエルに第1次反応バッファーを $50\mu\text{l}$ 加え、次いで各ヒト血清 $50\mu\text{l}$ を加えて 37°C で3時間放置した。洗浄バッファーで3回洗浄した後、第2次反応バッファーで400 倍に希釈したE3H8の標識抗体 $100\mu\text{l}$ を各ウエルに加えて、 37°C で2時間放置した。プレートを洗浄バッファーで3回洗浄後、上記基質溶液 $100\mu\text{l}$ を各ウエルに添加し、 37°C で15分間反応させた。各ウエルに 6N 硫酸 $50\mu\text{l}$ ずつ添加し

て酵素反応を停止させ、イムノリーダーで492nmの吸光度を測定した。既知量のOCIFを含む第1次反応バッファーについても同様に操作し、図14に示すようなOCIFの検量線を作成し、血清試料の吸光度から血清中のOCIF量を求めた。結果を表16に示す。

第16表

| 血清サンプル | OCIF量 (ng/ml) |
|--------|---------------|
| 1 | 5.0 |
| 2 | 2.0 |
| 3 | 1.0 |
| 4 | 3.0 |
| 5 | 1.5 |

〔実施例26〕

骨粗鬆症に対する治療効果

神経切除による不動性の骨萎縮モデルに対するOCIFの治療効果を確認した。Fischer系雄ラットを用い、6週齢（体重約120g）で左上腕神経叢を切除することにより、左前肢の不動化を惹起して骨萎縮モデルを作成した。OCIFは0.01%Tween80を含むPBS（-）で調整し、翌日から5 μ g/kg及び50 μ g/kgの用量で12時間間隔で1日2回、2週間連日静脈内投与した。正常群には偽手術を施し、対照群には0.01%Tween80を含むPBS（-）を同様に投与した。投与終了後、左上腕を摘出し骨強度を測定した。結果を図15に示す。

この結果、正常群に比べ対照群では骨強度の低下が観察されたが、OCIF 50 μ g/kg投与群において改善が認められた。

産業上の利用可能性

本発明により、新規な破骨細胞形成抑制活性を有する蛋白質及びその効率的な製造方法が提供される。本発明の蛋白質は破骨細胞形成抑制活性を有し、骨粗鬆症等各種の骨量減少性疾患の治療剤として或いはこれらの疾患の免疫学的診断の

ための抗原等として利用することができる。

寄託された微生物への言及

寄託機関の名称及びあて名

名 称：通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所

あて名：日本国茨城県つくば市東 1 丁目 1 番 3 号（郵便番号305）

寄託機関に寄託した日

平成 7 年 6 月 21 日（原寄託日）

（平成 7 年 6 月 21 日に寄託された微工研菌寄第 P-14998 号より移管、移管日

平成 7 年 10 月 25 日）

受託番号 F E R M BP-5267

配 列 表

配列番号 : 1

配列の長さ : 6

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド (蛋白質の内部アミノ酸)

配列 :

Xaa Tyr His Phe Pro Lys

1

5

配列番号 : 2

配列の長さ : 14

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド (蛋白質の内部アミノ酸)

配列 :

Xaa Gln His Ser Xaa Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Xaa Lys

1

5

10

配列番号 : 3

配列の長さ : 12

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド (蛋白質の内部アミノ酸)

配列 :

Xaa Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys

1

5

10

配列番号 : 4

配列の長さ : 380

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F ; シグナル無し)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His | Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 |
| His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro | Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys |
| | | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 |
| Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr | Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro |
| | | | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 |
| Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His | Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu |
| | | | | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 |
| Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu | Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu |
| | | | | 65 | | | | | 70 | | | | | 75 |
| Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys | Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg |
| | | | | 80 | | | | | 85 | | | | | 90 |
| Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys | His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro |
| | | | | 95 | | | | | 100 | | | | | 105 |
| Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr | Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val |
| | | | | 110 | | | | | 115 | | | | | 120 |
| Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe | Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser |
| | | | | 125 | | | | | 130 | | | | | 135 |
| Lys | Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn | Cys | Ser | Val | Phe | Gly | Leu |
| | | | | 140 | | | | | 145 | | | | | 150 |
| Leu | Leu | Thr | Gln | Lys | Gly | Asn | Ala | Thr | His | Asp | Asn | Ile | Cys | Ser |
| | | | | 155 | | | | | 160 | | | | | 165 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu | | |
| 170 | 175 | 180 |
| Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr | | |
| 185 | 190 | 195 |
| Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys | | |
| 200 | 205 | 210 |
| Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser | | |
| 215 | 220 | 225 |
| Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn | | |
| 230 | 235 | 240 |
| Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu | | |
| 245 | 250 | 255 |
| Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr | | |
| 260 | 265 | 270 |
| Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys | | |
| 275 | 280 | 285 |
| Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro | | |
| 290 | 295 | 300 |
| Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn | | |
| 305 | 310 | 315 |
| Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His | | |
| 320 | 325 | 330 |
| Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys | | |
| 335 | 340 | 345 |
| Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr | | |
| 350 | 355 | 360 |
| Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val | | |
| 365 | 370 | 375 |

Lys Ile Ser Cys Leu

380

配列番号 : 5

配列の長さ : 4 0 1

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F ; シグナル含む)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | 5 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | His | Ala | Leu | Lys | His | Ser | Lys | Thr | Tyr | His | Phe | Pro | Lys | Thr |
| 325 | | | | | 330 | | | | | 335 | | | | |
| Val | Thr | Gln | Ser | Leu | Lys | Lys | Thr | Ile | Arg | Phe | Leu | His | Ser | Phe |
| 340 | | | | | 345 | | | | | 350 | | | | |
| Thr | Met | Tyr | Lys | Leu | Tyr | Gln | Lys | Leu | Phe | Leu | Glu | Met | Ile | Gly |
| 355 | | | | | 360 | | | | | 365 | | | | |
| Asn | Gln | Val | Gln | Ser | Val | Lys | Ile | Ser | Cys | Leu | | | | |
| 370 | | | | | 375 | | | | | 380 | | | | |

配列番号：6

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類： cDNA (OCIF)

配列：

| | | | | | | |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| ATGAACAAC | TGCTGTGCTG | CGCGCTCGTG | TTTCTGGACA | TCTCCATTAA | GTGGACCACC | 60 |
| CAGGAAACGT | TTCCTCCAAA | GTACCTTCAT | TATGACGAAG | AAACCTCTCA | TCAGCTGTTG | 120 |
| TGTGACAAAT | GTCCTCCTGG | TACCTACCTA | AAACAACACT | GTACAGCAAA | GTGGAAGACC | 180 |
| GTGTGCGCCC | CTTGCCCTGA | CCACTACTAC | ACAGACAGCT | GGCACACCAG | TGACGAGTGT | 240 |
| CTATACTGCA | GCCCCGTGTG | CAAGGAGCTG | CAGTACGTCA | AGCAGGAGTG | CAATCGCACC | 300 |
| CACAACCGCG | TGTGCGAATG | CAAGGAAGGG | CGCTACCTTG | AGATAGAGTT | CTGCTTGAAA | 360 |
| CATAGGAGCT | GCCCTCCTGG | ATTTGGAGTG | GTGCAAGCTG | GAACCCCAAG | GCGAAATACA | 420 |
| GTTTGCAAAA | GATGTCCAGA | TGGGTTCTTC | TCAAATGAGA | CGTCATCTAA | AGCACCTGT | 480 |
| AGAAAACACA | CAAATTGCAG | TGTCTTTGGT | CTCCTGCTAA | CTCAGAAAGG | AAATGCAACA | 540 |
| CACGACAACA | TATGTTCCGG | AAACAGTGAA | TCAACTCAAA | AATGTGGAAT | AGATGTTACC | 600 |
| CTGTGTGAGG | AGGCATTCTT | CAGGTTTGCT | GTTCTACAAA | AGTTTACGCC | TAAGTGGCTT | 660 |


```

AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGC CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAAC1 1080
GTCACTCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTT TAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTGC 1200
TTATAA

```

1206

配列番号 : 7

配列の長さ : 1 5

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド (蛋白質のN末端アミノ酸)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His | Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser |
| 1 | | | 5 | | | | 10 | | | | | | 15 | |

配列番号 : 8

配列の長さ : 1 1 8 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF2)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGT TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGTGC AATCGCACCC ACAACCGCGT GTGCGAATGC 300
AAGGAAGGGC GCTACCTTGA GATAGAGTTC TGCTTGAAAC ATAGGAGCTG CCCTCCTGGA 360
TTTGGAGTGG TGCAAGCTGG AACCCAGAG CGAAATACAG TTTGCAAAAG ATGTCCAGAT 420
GGGTTCTTCT CAAATGAGAC GTCATCTAAA GCACCCTGTA GAAAACACAC AAATTGCAGT 480
GTCTTTGGTC TCCTGCTAAC TCAGAAAGGA AATGCAACAC ACGACAACAT ATGTTCCGGA 540
AACAGTGAAT CAACTCAAAA ATGTGGAATA GATGTTACCC TGTGTGAGGA GGCATTCTTC 600
AGGTTTGCTG TTCCTACAAA GTTTACGCCT AACTGGCTTA GTGTCTTGGT AGACAATTTG 660
CCTGGCACCA AAGTAAACGC AGAGAGTGTA GAGAGGATAA AACGGCAACA CAGCTCACAA 720
GAACAGACTT TCCAGCTGCT GAAGTTATGG AAACATCAAA ACAAAGACCA AGATATAGTC 780
AAGAAGATCA TCCAAGATAT TGACCTCTGT GAAAACAGCG TGCAGCGGCA CATTGGACAT 840
GCTAACCTCA CCTTCGAGCA GCTTCGTAGC TTGATGGAAA GCTTACCGGG AAAGAAAGTG 900
GGAGCAGAAG ACATTGAAAA AACAATAAAG GCATGCAAAC CCAGTGACCA GATCCTGAAG 960
CTGCTCAGTT TGTGGCGAAT AAAAAATGGC GACCAAGACA CCTTGAAGGG CTAATGCAC 1020
GCACTAAAGC ACTCAAAGAC GTACCACTTT CCCAAAAC TG TCACTCAGAG TCTAAAGAAG 1080
ACCATCAGGT TCCTTCACAG CTTACAATG TACAAATTGT ATCAGAAGTT ATTTT TAGAA 1140
ATGATAGGTA ACCAGGTCCA ATCAGTAAAA ATAAGCTGCT TATAA 1185

配列番号 : 9

配列の長さ : 3 9 4

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F 2)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | 1 | | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | | 20 | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | | 35 | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | | 50 | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Cys |
| 55 | | | | | 60 | | | | | | 65 | | | |
| Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys | Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr |
| 70 | | | | | 75 | | | | | | 80 | | | |
| Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys | His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly |
| 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 | | | |
| Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr | Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys |
| 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | | | |
| Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe | Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser | Lys |
| 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |
| Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn | Cys | Ser | Val | Phe | Gly | Leu | Leu |
| 130 | | | | | 135 | | | | | | 140 | | | |
| Leu | Thr | Gln | Lys | Gly | Asn | Ala | Thr | His | Asp | Asn | Ile | Cys | Ser | Gly |
| 145 | | | | | 150 | | | | | | 155 | | | |
| Asn | Ser | Glu | Ser | Thr | Gln | Lys | Cys | Gly | Ile | Asp | Val | Thr | Leu | Cys |
| 160 | | | | | 165 | | | | | | 170 | | | |
| Glu | Glu | Ala | Phe | Phe | Arg | Phe | Ala | Val | Pro | Thr | Lys | Phe | Thr | Pro |
| 175 | | | | | 180 | | | | | | 185 | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser Gln | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Ile Ser Cys Leu | | |
| 370 | | |

配列番号 : 1 0

配列の長さ : 1 0 8 9

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : c D N A (O C I F 3)

配列 :

```
ATGAACAAGT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCAAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC AGTTTGTGGC GAATAAAAAA TGGCGACCAA 900
GACACCTTGA AGGGCCTAAT GCACGCACTA AAGCACTCAA AGACGTACCA CTTTCCCAA 960
ACTGTCACTC AGAGTCTAAA GAAGACCATC AGGTTTCCTC ACAGCTTCAC AATGTACAAA 1020
TTGTATCAGA AGTTATTTTT AGAAATGATA GGTAACCAGG TCCAATCAGT AAAAATAAGC 1080
TGCTTATAA 1089
```

配列番号：1 1

配列の長さ：3 6 2

配列の型：アミノ酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質（O C I F 3）

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Lys | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | 1 | | | | | 5 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser | | |
| 325 | 330 | 335 |

Cys Leu

340

配列番号 : 1 2

配列の長さ : 4 6 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF4)

配列 :

```
ATGAACAAGT TGCTGTGCTG CTCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GTACGTGTCA ATGTGCAGCA 420
AAATTAATTA GGATCATGCA AAGTCAGATA GTTGTGACAG TTTAG 465
```

配列番号 : 1 3

配列の長さ : 1 5 4

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (OCIF4)

配列 :

Met Asn Lys Leu Leu Cys Cys Ser Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
 -5 1 5
 Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
 10 15 20
 Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
 25 30 35
 Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His
 40 45 50
 Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu
 55 60 65
 Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys
 70 75 80
 Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys
 85 90 95
 His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr
 100 105 110
 Cys Gln Cys Ala Ala Lys Leu Ile Arg Ile Met Gln Ser Gln Ile
 115 120 125
 Val Val Thr Val
 130

配列番号 : 1 4

配列の長さ : 4 3 8

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : c D N A (O C I F 5)

配列 :

```

ATGAACAAGT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC   60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG  120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC  180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT  240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC  300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA  360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GATGCAGGAG AAGACCCAAG  420
CCACAGATAT GTATCTGA                                     438

```

配列番号 : 1 5

配列の長さ : 1 4 0

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F 5)

配列 :

```

Met Asn Lys Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
      -20              -15              -10

Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
      -5              1              5

Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
10              15              20

Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
25              30              35

```

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Cys |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Arg | Arg | Arg | Pro | Lys | Pro | Gln | Ile | Cys | Ile | | | | | |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |

配列番号：16

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーT3）

配列：

AATTAACCCT CACTAAAGGG

20

配列番号：17

配列の長さ：22

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーT7）

配列：

GTAATACGAC TCACTATAGG GC

22

配列番号：18

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーIF1）

配列：

ACATCAAAAC AAAGACCAAG

20

配列番号：19

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーIF2）

配列：

TCTTGGTCTT TGTTTTGATG

20

配列番号：20

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF3)

配列 :

TTATTGCGCCA CAAACTGAGC

20

配列番号 : 2 1

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF4)

配列 :

TTGTGAAGCT GTGAAGGAAC

20

配列番号 : 2 2

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF5)

配列 :

GCTCAGTTTG TGGCGAATAA

20

配列番号 : 2 3

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF6)

配列 :

GTGGGAGCAG AAGACATTGA

20

配列番号 : 2 4

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF7)

配列 :

AATGAACAAC TTGCTGTGCT

20

配列番号 : 2 5

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF8)

配列 :

TGACAAATGT CCTCCTGGTA

20

配列番号 : 2 6

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF9)

配列 :

AGGTAGGTAC CAGGAGGACA

20

配列番号 : 2 7

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF10)

配列 :

GAGCTGCCCT CCTGGATTG

20

配列番号 : 2 8

配列の長さ : 2 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーIF11)

配列：

CAAACTGTAT TTCGCTCTGG

20

配列番号：29

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーIF12）

配列：

GTGTGAGGAG GCATTCTTCA

20

配列番号：30

配列の長さ：32

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーC19SF）

配列：

GAATCAACTC AAAAAAGTGG AATAGATGTT AC

32

配列番号：31

配列の長さ：32

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーC19SR）

配列：

GTAACATCTA TTCCACTTTT TTGAGTTGAT TC

32

配列番号：32

配列の長さ：30

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーC20SF）

配列：

ATAGATGTTA CCCTGAGTGA GGAGGCATTC

30

配列番号：33

配列の長さ：30

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーC20SR）

配列：

GAATGCCTCC TCACTCAGGG TAACATCTAT

30

配列番号 : 3 4

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成 DNA (プライマー C21SF)

配列 :

CAAGATATTG ACCTCAGTGA AAACAGCGTG C

31

配列番号 : 3 5

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成 DNA (プライマー C21SR)

配列 :

GCACGCTGTT TTCACTGAGG TCAATATCTT G

31

配列番号 : 3 6

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成 DNA (プライマー C22SF)

配列 :

AAAACAATAA AGGCAAGCAA ACCCAGTGAC C

31

配列番号 : 3 7

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーC22SR)

配列 :

GGTCACTGGG TTTGCTTGCC TTTATTGTTT T

31

配列番号 : 3 8

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーC23SF)

配列 :

TCAGTAAAAA TAAGCAGCTT ATAAGTGGCC A

31

配列番号 : 3 9

配列の長さ : 3 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーC23SR)

配列：

TGGCCAGTTA TAAGCTGCTT ATTTTACTG A

31

配列番号：4 0

配列の長さ：2 2

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーIF 14）

配列：

TTGGGGTTTA TTGGAGGAGA TG

22

配列番号：4 1

配列の長さ：3 6

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR1F）

配列：

ACCACCCAGG AACCTTGCCC TGACCACTAC TACACA

30

配列番号：4 2

配列の長さ：3 6

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR1R）

配列：

GTCAGGGCAA GGTTCCTGGG TGGTCCACTT AATGGA

36

配列番号：43

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR2F）

配列：

ACCGTGTGCG CCGAATGCAA GGAAGGGCGC TACCTT

36

配列番号：44

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR2R）

配列：

TTCCTTGCAT TCGGCGCACA CGGTCTTCCA CTTTGC

36

配列番号：45

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR3F）

配列：

AACCGCGTGT GCAGATGTCC AGATGGGTTC TTCTCA

36

配列番号：46

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR3R）

配列：

ATCTGGACAT CTGCACACGC GGTTGTGGGT GCGATT

36

配列番号：47

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーDCR4F）

配列：

ACAGTTTGCA AATCCGAAA CAGTGAATCA ACTCAA

36

配列番号 : 4 8

配列の長さ : 3 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーDCR4R)

配列 :

ACTGTTTCCG GATTGCAAA CTGTATTTCG CTCTGG

30

配列番号 : 4 9

配列の長さ : 3 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーDDD1F)

配列 :

AATGTGGAAT AGATATTGAC CTCTGTGAAA ACAGCG

30

配列番号 : 5 0

配列の長さ : 3 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーDDD1R)

配列 :

AGAGGTCAAT ATCTATTCCA CATTTTTGAG TTGATT

36

配列番号 : 5 1

配列の長さ : 3 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーDDD2F)

配列 :

AGATCATCCA AGACGCACTA AAGCACTCAA AGACGT

36

配列番号 : 5 2

配列の長さ : 3 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーDDD2R)

配列 :

GCTTTAGTGC GTCTTGGATG ATCTTCTTGA CTATAT

36

配列番号 : 5 3

配列の長さ : 2 9

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 合成DNA (プライマーXhoI F)

配列：

GGCTCGAGCG CCCAGCCGCC GCCTCCAAG

29

配列番号：5 4

配列の長さ：2 0

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーIF 16）

配列：

TTTGAGTGCT TTAGTGCGTG

20

配列番号：5 5

配列の長さ：3 0

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCL F）

配列：

TCAGTAAAAA TAAGCTAACT GGAAATGGCC

30

配列番号：5 6

配列の長さ：3 0

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCL R）

配列：

GGCCATTTCC AGTTAGCTTA TTTTACTGA

30

配列番号：57

配列の長さ：29

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCC R）

配列：

CCGGATCCTC AGTGCTTTAG TCGGTGCAT

29

配列番号：58

配列の長さ：29

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCCD2 R）

配列：

CCGGATCCTC ATTGGATGAT CTTCTTGAC

29

配列番号：59

配列の長さ：29

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCCD1 R）

配列：

CCGGATCCTC ATATTCCACA TTTTGAGT

29

配列番号：60

配列の長さ：29

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCCR4 R）

配列：

CCGGATCCTC ATTTGCAAAC TGTATTTTCG

29

配列番号：61

配列の長さ：29

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA（プライマーCCR3 R）

配列：

CCGGATCCTC ATTCGCACAC GCGGTTGTG

29

配列番号：62

配列の長さ：401

配列の型：アミノ酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質 (OCIF-C19S)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | 5 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Ser | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |

9 6

| | | |
|---|-----|-----|
| Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys | | |
| 85 | 90 | 95 |
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Ser Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu | | |
| 370 | 375 | 380 |

配列番号 : 6 4

配列の長さ : 4 0 1

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C 2 1 S)

配列 :

| | | |
|---|------|-----|
| Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser | | |
| -20 | -15 | -10 |
| Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His | | |
| -5 | -1 1 | 5 |
| Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro | | |
| 10 | 15 | 20 |
| Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr | | |
| 25 | 30 | 35 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His | | |
| 40 | 45 | 50 |
| Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu | | |
| 55 | 60 | 65 |
| Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys | | |
| 70 | 75 | 80 |
| Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys | | |
| 85 | 90 | 95 |
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Ser Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu | | |
| 370 | 375 | 380 |

配列番号 : 6 5

配列の長さ : 4 0 1

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C 2 2 S)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser

-20

-15

-10

| | | |
|---|------|-----|
| Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His | | |
| -5 | -1 1 | 5 |
| Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro | | |
| 10 | 15 | 20 |
| Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr | | |
| 25 | 30 | 35 |
| Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His | | |
| 40 | 45 | 50 |
| Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu | | |
| 55 | 60 | 65 |
| Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys | | |
| 70 | 75 | 80 |
| Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys | | |
| 85 | 90 | 95 |
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |

| | | |
|---|-----|-----|
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Ser Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |
| Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu | | |
| 370 | 375 | 380 |

配列番号 : 6 6

配列の長さ : 4 0 1

配列の型 : アミノ酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質 (O C I F - C 2 3 S)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser | Lys | Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Cys | Ser | Val | Phe | Gly | Leu | Leu | Leu | Thr | Gln | Lys | Gly | Asn | Ala | Thr |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |

Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Ser Leu
 370 375 380

配列番号 : 6 7

配列の長さ : 3 6 0

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - D C R 1)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr
 -5 -1 1 5
 Asp Ser Trp His Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val
 10 15 20
 Cys Lys Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His
 25 30 35
 Asn Arg Val Cys Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu
 40 45 50
 Phe Cys Leu Lys His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val
 55 60 65
 Gln Ala Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro
 70 75 80
 Asp Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg
 85 90 95
 Lys His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys
 100 105 110

| | | |
|---|-----|-----|
| Gly Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Thr Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Phe Arg Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Val Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Val Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Gln Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Val Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Gln Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |

Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu
 325 330 335

配列番号 : 6 8

配列の長さ : 3 5 9

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - D C R 2)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
 -5 -1 1 5
 Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
 10 15 20
 Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
 25 30 35
 Val Cys Ala Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe
 40 45 50
 Cys Leu Lys His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln
 55 60 65
 Ala Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp
 70 75 80
 Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys
 85 90 95
 His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly
 100 105 110

| | | |
|---|-----|-----|
| Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Arg Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu | | |
| 295 | 300 | 305 |
| His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu | | |
| 310 | 315 | 320 |

Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu
 325 330 335

配列番号 : 6 9

配列の長さ : 3 6 3

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - D C R 3)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
 -5 -1 1 5
 Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
 10 15 20
 Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
 25 30 35
 Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His
 40 45 50
 Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu
 55 60 65
 Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys
 70 75 80
 Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala
 85 90 95
 Pro Cys Arg Lys His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu
 100 105 110

| | | |
|---|-----|-----|
| Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Trp Leu Ser Val Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Ile Arg Phe Leu His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys | | |
| 310 | 315 | 320 |

Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile

325

330

335

Ser Cys Leu

340

配列番号 : 7 0

配列の長さ : 3 5 9

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - D C R 4)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser

-20

-15

-10

Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His

-5

-1 1

5

Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro

10

15

20

Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr

25

30

35

Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His

40

45

50

Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu

55

60

65

Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys

70

75

80

Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys

85

90

95

| | | |
|---|-----|-----|
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Gln Lys Cys Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Arg Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Leu Val Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Glu Arg Ile Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Leu Leu Lys Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Lys Lys Ile Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu | | |
| 295 | 300 | 305 |

His Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu

310 315 320

Met Ile Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu

325 330 335

配列番号 : 7 1

配列の長さ : 3 2 6

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - D D D 1)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser

-20 -15 -10

Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His

-5 -1 1 5

Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro

10 15 20

Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr

25 30 35

Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His

40 45 50

Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu

55 60 65

Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys

70 75 80

Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys

85 90 95

| | | |
|---|-----|-----|
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu | | |
| 295 | 300 | 305 |

配列番号：7 2

配列の長さ：3 2 7

配列の型：アミノ酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質 (O C I F - D D D 2)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | | 20 | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | | 35 | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | | 50 | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | | 65 | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | | 80 | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | | 95 | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | | 110 | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | | 125 | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu | | |
| 295 | 300 | 305 |

配列番号 : 7 3

配列の長さ : 3 9 9

配列の型 : アミノ酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質（O C I F - C L）

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser | Lys | Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Cys | Ser | Val | Phe | Gly | Leu | Leu | Leu | Thr | Gln | Lys | Gly | Asn | Ala | Thr |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |
| Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly | | |
| 355 | 360 | 365 |

Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser

370

375

配列番号 : 7 4

配列の長さ : 3 5 1

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C C)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | 5 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |

Met His Ala Leu Lys His

325

330

配列番号 : 7 5

配列の長さ : 2 7 2

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C D D 2)

配列 :

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | 5 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser | Lys | Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |
| Cys | Ser | Val | Phe | Gly | Leu | Leu | Leu | Thr | Gln | Lys | Gly | Asn | Ala | Thr |
| 145 | | | | | 150 | | | | | 155 | | | | |
| His | Asp | Asn | Ile | Cys | Ser | Gly | Asn | Ser | Glu | Ser | Thr | Gln | Lys | Cys |
| 160 | | | | | 165 | | | | | 170 | | | | |
| Gly | Ile | Asp | Val | Thr | Leu | Cys | Glu | Glu | Ala | Phe | Phe | Arg | Phe | Ala |
| 175 | | | | | 180 | | | | | 185 | | | | |
| Val | Pro | Thr | Lys | Phe | Thr | Pro | Asn | Trp | Leu | Ser | Val | Leu | Val | Asp |
| 190 | | | | | 195 | | | | | 200 | | | | |
| Asn | Leu | Pro | Gly | Thr | Lys | Val | Asn | Ala | Glu | Ser | Val | Glu | Arg | Ile |
| 205 | | | | | 210 | | | | | 215 | | | | |
| Lys | Arg | Gln | His | Ser | Ser | Gln | Glu | Gln | Thr | Phe | Gln | Leu | Leu | Lys |
| 220 | | | | | 225 | | | | | 230 | | | | |
| Leu | Trp | Lys | His | Gln | Asn | Lys | Asp | Gln | Asp | Ile | Val | Lys | Lys | Ile |
| 235 | | | | | 240 | | | | | 245 | | | | |
| Ile | Gln | | | | | | | | | | | | | |
| 250 | | | | | | | | | | | | | | |

配列番号 : 7 6

配列の長さ : 1 9 7

配列の型 : アミノ酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C D D 1)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
 -5 -1 1 5
 Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
 10 15 20
 Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
 25 30 35
 Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His
 40 45 50
 Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu
 55 60 65
 Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys
 70 75 80
 Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys
 85 90 95
 His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr
 100 105 110
 Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe
 115 120 125
 Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn
 130 135 140
 Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr
 145 150 155
 His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys
 160 165 170
 Gly Ile
 175

配列番号： 7 7

配列の長さ： 1 4 3

配列の型：アミノ酸

鎖の数： 1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質（O C I F - C C R 4）

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| | -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| | -5 | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | | | | | | | |
| 115 | | | | | 120 | | | | | | | | | |

配列番号： 7 8

配列の長さ： 1 0 6

配列の型： アミノ酸

鎖の数： 1

トポロジー： 直鎖状

配列の種類： 蛋白質 (O C I F - C C R 3)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| | -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| | -5 | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | | | | | | | | | | | | | | |
| 85 | | | | | | | | | | | | | | |

配列番号：79

配列の長さ : 3 9 3

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質 (O C I F - C B s t)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | | -15 | | | | | | -10 | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | | 5 | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Ser | Asn | Glu | Thr | Ser | Ser | Lys | Ala | Pro | Cys | Arg | Lys | His | Thr | Asn |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |

| | | |
|---|-----|-----|
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile Leu Lys Leu Leu Ser | | |
| 295 | 300 | 305 |
| Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr Leu Lys Gly Leu | | |
| 310 | 315 | 320 |
| Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe Pro Lys Thr | | |
| 325 | 330 | 335 |
| Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His Ser Phe | | |
| 340 | 345 | 350 |

Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile Gly

355

360

365

Asn Leu Val

370

配列番号 : 8 0

配列の長さ : 3 2 1

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C S p h)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser

-20

-15

-10

Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His

-5

-1 1

5

Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro

10

15

20

Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr

25

30

35

Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His

40

45

50

Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys Glu Leu

55

60

65

Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val Cys

70

75

80

Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys

85

90

95

| | | |
|---|-----|-----|
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala Gly Thr | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr | | |
| 145 | 150 | 155 |
| His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys | | |
| 160 | 165 | 170 |
| Gly Ile Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg Phe Ala | | |
| 175 | 180 | 185 |
| Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val Asp | | |
| 190 | 195 | 200 |
| Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile | | |
| 205 | 210 | 215 |
| Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys | | |
| 220 | 225 | 230 |
| Leu Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile | | |
| 235 | 240 | 245 |
| Ile Gln Asp Ile Asp Leu Cys Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile | | |
| 250 | 255 | 260 |
| Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu | | |
| 265 | 270 | 275 |
| Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala Glu Asp Ile Glu Lys Thr | | |
| 280 | 285 | 290 |
| Ile Lys Ala Ser Leu Asp | | |
| 295 | 300 | |

配列番号： 8 1

配列の長さ： 2 0 2

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：蛋白質 (O C I F - C B s p)

配列：

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Asn | Asn | Leu | Leu | Cys | Cys | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Asp | Ile | Ser |
| -20 | | | | | -15 | | | | | -10 | | | | |
| Ile | Lys | Trp | Thr | Thr | Gln | Glu | Thr | Phe | Pro | Pro | Lys | Tyr | Leu | His |
| -5 | | | | | -1 | 1 | | | | 5 | | | | |
| 10 | | | | | 15 | | | | | 20 | | | | |
| Tyr | Asp | Glu | Glu | Thr | Ser | His | Gln | Leu | Leu | Cys | Asp | Lys | Cys | Pro |
| 25 | | | | | 30 | | | | | 35 | | | | |
| Pro | Gly | Thr | Tyr | Leu | Lys | Gln | His | Cys | Thr | Ala | Lys | Trp | Lys | Thr |
| 40 | | | | | 45 | | | | | 50 | | | | |
| Val | Cys | Ala | Pro | Cys | Pro | Asp | His | Tyr | Tyr | Thr | Asp | Ser | Trp | His |
| 55 | | | | | 60 | | | | | 65 | | | | |
| Thr | Ser | Asp | Glu | Cys | Leu | Tyr | Cys | Ser | Pro | Val | Cys | Lys | Glu | Leu |
| 70 | | | | | 75 | | | | | 80 | | | | |
| Gln | Tyr | Val | Lys | Gln | Glu | Cys | Asn | Arg | Thr | His | Asn | Arg | Val | Cys |
| 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | | | | |
| Glu | Cys | Lys | Glu | Gly | Arg | Tyr | Leu | Glu | Ile | Glu | Phe | Cys | Leu | Lys |
| 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | | | |
| His | Arg | Ser | Cys | Pro | Pro | Gly | Phe | Gly | Val | Val | Gln | Ala | Gly | Thr |
| 115 | | | | | 120 | | | | | 125 | | | | |
| Pro | Glu | Arg | Asn | Thr | Val | Cys | Lys | Arg | Cys | Pro | Asp | Gly | Phe | Phe |
| 130 | | | | | 135 | | | | | 140 | | | | |

Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn
 145 150 155
 Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr
 160 165 170
 His Asp Asn Ile Cys Ser Gly
 175 180

配列番号 : 8 2

配列の長さ : 8 4

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : 蛋白質 (O C I F - C P s t)

配列 :

Met Asn Asn Leu Leu Cys Cys Ala Leu Val Phe Leu Asp Ile Ser
 -20 -15 -10
 Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His
 -5 -1 1 5
 Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro
 10 15 20
 Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr
 25 30 35
 Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp Ser Trp His
 40 45 50
 Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Leu Val
 55 60

配列番号 : 8 3

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA (OCIF-C19S)

配列：

```
ATGAACAAC T GCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTA1ACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AAAGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGAT 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080
GTCCTCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTT TAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTGC 1200
TTATAA 1206
```

配列番号 : 8 4

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-C20S)

配列 :

```
ATGAACAAC T GCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCGCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCCCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGAGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAACT 1080
GTCCTCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTTTAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTGC 1200
```

TTATAA

1206

配列番号 : 8 5

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-C21S)

配列 :

```
ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCAG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080
```

GTCAC TCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTTTAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTGC 1200
TTATAA 1206

配列番号 : 8 6

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF - C22S)

配列 :

ATGAACA ACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCAAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCAAGCAAA 960

CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080
GTCACCTCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTT TAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTGC 1200
TTATAA 1206

配列番号 : 8 7

配列の長さ : 1 2 0 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF - C23S)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCAAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840

GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080
GTCACTCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTTLAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCAGC 1200
TTATAA 1206

配列番号 : 8 8

配列の長さ : 1 0 8 3

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-DCR1)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAACCTT GCCCTGACCA CTACTACACA GACAGCTGGC ACACCAGTGA CGAGTGTCTA 120
TACTGCAGCC CCGTGTGCAA GGAGCTGCAG TACGTCAAGC AGGAGTGCAA TCGCACCCAC 180
AACCGCGTGT GCGAATGCAA GGAAGGGCGC TACCTTGAGA TAGAGTTCTG CTTGAAACAT 240
AGGAGCTGCC CTCCTGGATT TGGAGTGGTG CAAGCTGGAA CCCCAGAGCG AAATACAGTT 300
TGCAAAAGAT GTCCAGATGG GTTCTTCTCA AATGAGACGT CATCTAAAGC ACCCTGTAGA 360
AAACACACAA ATTGCAGTGT CTTTGGTCTC CTGCTAACTC AGAAAGGAAA TGCAACACAC 420
GACAACATAT GTTCCGGAAG CAGTGAATCA ACTCAAAAAT GTGGAATAGA TGTACCCTG 480
TGTGAGGAGG CATTCTTCAG GTTTGCTGTT CCTACAAAGT TTACGCCTAA CTGGCTTAGT 540
GTCTTGGTAG ACAATTTGCC TGGCACCAAA GTAAACGCAG AGAGTGTAGA GAGGATAAAA 600
CGGCAACACA GCTCACAAGA ACAGACTTTC CAGCTGCTGA AGTTATGGAA ACATCAAAAC 660
AAAGACCAAG ATATAGTCAA GAAGATCATC CAAGATATTG ACCTCTGTGA AAACAGCGTG 720

CAGCGGCACA TTGGACATGC TAACCTCACC TTCGAGCAGC TTCGTAGCTT GATGGAAAGC 780
TTACCGGGAA AGAAAGTGGG AGCAGAAGAC ATTGAAAAAA CAATAAAGGC ATGCAAACCC 840
AGTGACCAGA TCCTGAAGCT GCTCAGTTTG TGGCGAATAA AAAATGGCGA CCAAGACACC 900
TTGAAGGGCC TAATGCACGC ACTAAAGCAC TCAAAGACGT ACCACTTTCC CAAAACGTGC 960
ACTCAGAGTC TAAAGAAGAC CATCAGGTTC CTTACAGCT TCACAATGTA CAAATTGTAT 1020
CAGAAGTTAT TTTTAGAAAT GATAGGTAAC CAGGTCCAAT CAGTAAAAAT AAGCTGCTTA 1080
TAA 1083

配列番号 : 8 9

配列の長さ : 1 0 8 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : c D N A (O C I F - D C R 2)

配列 :

ATGAACAACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCG AATGCAAGGA AGGGCGCTAC CTTGAGATAG AGTTCTGCTT GAAACATAGG 240
AGCTGCCCTC CTGGATTGCG AGTGGTGCAA GCTGGAACCC CAGAGCGAAA TACAGTTTGC 300
AAAAGATGTC CAGATGGGTT CTTCTCAAAT GAGACGTCAT CTAAAGCACC CTGTAGAAAA 360
CACACAAATT GCAGTGTCTT TGGTCTCCTG CTAAGTCAGA AAGGAAATGC AACACACGAC 420
AACATATGTT CCGGAAACAG TGAATCAACT CAAAAATGTG GAATAGATGT TACCCTGTGT 480
GAGGAGGCAT TCTTCAGGTT TGCTGTTTCT ACAAAGTTTA CGCCTAACTG GCTTAGTGTC 540
TTGGTAGACA ATTTGCCTGG CACCAAAGTA AACGCAGAGA GTGTAGAGAG GATAAAACGG 600
CAACACAGCT CACAAGAACA GACTTTCCAG CTGCTGAAGT TATGGAAACA TCAAAACAAA 660
GACCAAGATA TAGTCAAGAA GATCATCCAA GATATTGACC TCTGTGAAAA CAGCGTGCAG 720

CGGCACATIG GACATGCTAA CCTCACCTTC GAGCAGCTTC GTAGCTTGAT GGAAAGCTTA 780
CCGGGAAAGA AAGTGGGAGC AGAAGACATT GAAAAACAA TAAAGGCATG CAAACCCAGT 840
GACCAGATCC TGAAGCTGCT CAGTTTGTGG CGAATAAAAA ATGGCGACCA AGACACCTTG 900
AAGGGCCTAA TGCACGCACT AAAGCACTCA AAGACGTACC ACTTTCCCAA AACTGTCACT 960
CAGAGTCTAA AGAAGACCAT CAGGTTTCCTT CACAGCTTCA CAATGTACAA ATTGTATCAG 1020
AAGTTATTTT TAGAAATGAT AGGTAACCAG GTCCAATCAG TAAAAATAAG CTGCTTATAA 1080

配列番号 : 9 0

配列の長さ : 1 0 9 2

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-DCR3)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCAGATG TCCAGATGGG TTCTTCTCAA ATGAGACGTC ATCTAAAGCA 360
CCCTGTAGAA AACACACAAA TTGCAGTGTC TTTGGTCTCC TGCTAACTCA GAAAGGAAAT 420
GCAACACACG ACAACATATG TTCCGGAAAC AGTGAATCAA CTCAAAAATG TGGAATAGAT 480
GTTACCCTGT GTGAGGAGGC ATTCTTCAGG TTTGCTGTTC CTACAAAGTT TACGCCTAAC 540
TGGCTTAGTG TCTTGGTAGA CAATTTGCCT GGCACCAAAG TAAACGCAGA GAGTGTAGAG 600
AGGATAAAAC GGCAACACAG CTCACAAGAA CAGACTTTCC AGCTGCTGAA GTTATGGAAA 660
CATCAAAACA AAGACCAAGA TATAGTCAAG AAGATCATCC AAGATATTGA CCTCTGTGAA 720
AACAGCGTGC AGCGGCACAT TGGACATGCT AACCTCACCT TCGAGCAGCT TCGTAGCTTG 780

ATGGAAAGCT TACCGGGAAA GAAAGTGGGA GCAGAAGACA TTGAAAAAAC AATAAAGGCA 840
TGCAAACCCA GTGACCAGAT CCTGAAGCTG CTCAGTTTGT GGCGAATAAA AAATGGCGAC 900
CAAGACACCT TGAAGGGCCT AATGCACGCA CTAAAGCACT CAAAGACGTA CCACTTTCCC 960
AAACTGTCA CTCAGAGTCT AAAGAAGACC ATCAGGTTCC TTCACAGCTT CACAATGTAC 1020
AAATTGTATC AGAAGTTATT TTAGAAATG ATAGGTAACC AGGTCCAATC AGTAAAAATA 1080
AGCTGCTTAT AA 1092

配列番号 : 9 1

配列の長さ : 1 0 8 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-DCR4)

配列 :

ATGAACAACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCAGAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAT CCGGAAACAG TGAATCAACT CAAAAATGTG GAATAGATGT TACCCTGTGT 480
GAGGAGGCAT TCTTCAGGTT TGCTGTTTCT ACAAAGTTTA CGCCTAACTG GCTTAGTGTC 540
TTGGTAGACA ATTTGCCTGG CACCAAAGTA AACGCAGAGA GTGTAGAGAG GATAAACGG 600
CAACACAGCT CACAAGAACA GACTTTCCAG CTGCTGAAGT TATGGAAACA TCAAAACAAA 660
GACCAAGATA TAGTCAAGAA GATCATCCAA GATATTGACC TCTGTGAAAA CAGCGTGCAG 720
CGGCACATTG GACATGCTAA CCTCACCTTC GAGCAGCTTC GTAGCTTGAT GGAAAGCTTA 780

CCGGGAAAGA AAGTGGGAGC AGAAGACATT GAAAAACAA TAAAGGCATG CAAACCCAGT 840
GACCAGATCC TGAAGCTGCT CAGTTTGTGG CGAATAAAAA ATGGCGACCA AGACACCTTG 900
AAGGGCCTAA TGCACGCACT AAAGCACTCA AAGACGTACC ACTTTCCCAA AACTGTCACT 960
CAGAGTCTAA AGAAGACCAT CAGGTTTCCTT CACAGCTTCA CAATGTACAA ATTGTATCAG 1020
AAGTTATTTT TAGAAATGAT AGGTAACCAG GTCCAATCAG TAAAAATAAG CTGCTTATAA 1080

配列番号 : 9 2

配列の長さ : 9 8 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-DDD1)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCAAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CAGGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATATTGAC 600
CTCTGTGAAA ACAGCGTGCA GCGGCACATT GGACATGCTA ACCTCACCTT CGAGCAGCTT 660
CGTAGCTTGA TGGAAAGCTT ACCGGGAAAG AAAGTGGGAG CAGAAGACAT TGAAAAACAA 720
ATAAAGGCAT GCAAACCCAG TGACCAGATC CTGAAGCTGC TCAGTTTGTG GCGAATAAAA 780
AATGGCGACC AAGACACCTT GAAGGGCCTA ATGCACGCAC TAAAGCACTC AAAGACGTAC 840

CACTTTCCCA AAACGTGCAC TCAGAGTCTA AAGAAGACCA TCAGGTCCT TCACAGCTTC 900
ACAATGTACA AATTGTATCA GAAGTTATTT TTAGAAATGA TAGGTAACCA GGTCCAATCA 960
GTAAAAATAA GCTGCTTATA A 981

配列番号：9 3

配列の長さ：9 8 4

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA (OCIF-DDD2)

配列：

ATGAACAACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGACG CACTAAAGCA CTCAAAGACG 840
TACCACTTTC CCAAACTGT CACTCAGAGT CTAAAGAAGA CCATCAGGTT CCTTCACAGC 900
TTCACAATGT ACAAATTGTA TCAGAAGTTA TTTTATAGAA TGATAGGTAA CCAGGTCCAA 960

TCAGTAAAAA TAAGCTGCTT ATAA

984

配列番号：9 4

配列の長さ：1 2 0 0

配列の型：核酸

鎖の数：1

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA (OCIF-CL)

配列：

ATGAACAAC T GCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCCAAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CAGGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080

GTCAC TCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTT TAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTAA 1200

配列番号 : 9 5

配列の長さ : 1 0 5 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : c D N A (O C I F - C C)

配列 :

ATGAACA ACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCC CAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020

GTCAC TCAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTTTAGA AATGATAGGT AACCAGGTCC AATCAGTAAA AATAAGCTAA 1200

配列番号 : 9 5

配列の長さ : 1 0 5 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CC)

配列 :

ATGAACAACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCAGAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020

ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTGA

1056

配列番号 : 9 6

配列の長さ : 8 1 9

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CDD2)

配列 :

```
ATGAACAACT TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAATGA 819
```

配列番号 : 9 7

配列の長さ : 5 9 4

配列の型 : 核酸

ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTGA

1056

配列番号 : 9 6

配列の長さ : 8 1 9

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CDD2)

配列 :

ATGAACAAC T GCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCCCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAATGA 819

配列番号 : 9 7

配列の長さ : 5 9 4

配列の型 : 核酸

CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCAGAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAT GA 432

配列番号 : 9 9

配列の長さ : 3 2 1

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CCR3)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG A 321

配列番号 : 1 0 0

配列の長さ : 1 1 8 2

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CBst)

配列 :

ATGAACAAC T GCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCGAGA GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AAACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCATGCAAA 960
CCCAGTGACC AGATCCTGAA GCTGCTCAGT TTGTGGCGAA TAAAAAATGG CGACCAAGAC 1020
ACCTTGAAGG GCCTAATGCA CGCACTAAAG CACTCAAAGA CGTACCACTT TCCCAAAACT 1080
GTCACCTAGA GTCTAAAGAA GACCATCAGG TTCCTTCACA GCTTCACAAT GTACAAATTG 1140
TATCAGAAGT TATTTTTAGA AATGATAGGT AACCTAGTCT AG 1182

配列番号 : 1 0 1

配列の長さ : 9 6 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CSph)

配列 :

ATGAACAAC T TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCAGAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCCCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG AACAGTGAA TCAACTCAAA AATGTGGAAT AGATGTTACC 600
CTGTGTGAGG AGGCATTCTT CAGGTTTGCT GTTCCTACAA AGTTTACGCC TAACTGGCTT 660
AGTGTCTTGG TAGACAATTT GCCTGGCACC AAAGTAAACG CAGAGAGTGT AGAGAGGATA 720
AAACGGCAAC ACAGCTCACA AGAACAGACT TTCCAGCTGC TGAAGTTATG GAAACATCAA 780
AACAAAGACC AAGATATAGT CAAGAAGATC ATCCAAGATA TTGACCTCTG TGAAAACAGC 840
GTGCAGCGGC ACATTGGACA TGCTAACCTC ACCTTCGAGC AGCTTCGTAG CTTGATGGAA 900
AGCTTACCGG GAAAGAAAGT GGGAGCAGAA GACATTGAAA AAACAATAAA GGCTAGTCTA 960
GACTAG 966

配列番号 : 1 0 2

配列の長さ : 5 6 4

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CBsp)

配列 :

ATGAACAAC T TGCTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60

CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACTGCA GCCCCGTGTG CAAGGAGCTG CAGTACGTCA AGCAGGAGTG CAATCGCACC 300
CACAACCGCG TGTGCGAATG CAAGGAAGGG CGCTACCTTG AGATAGAGTT CTGCTTGAAA 360
CATAGGAGCT GCCCTCCTGG ATTTGGAGTG GTGCAAGCTG GAACCCAGAG GCGAAATACA 420
GTTTGCAAAA GATGTCCAGA TGGGTTCTTC TCAAATGAGA CGTCATCTAA AGCACCTGT 480
AGAAAACACA CAAATTGCAG TGTCTTTGGT CTCCTGCTAA CTCAGAAAGG AAATGCAACA 540
CACGACAACA TATGTTCCGG CTAG 564

配列番号 : 1 0 3

配列の長さ : 2 5 5

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 1

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA (OCIF-CPst)

配列 :

ATGAACAAC TGTGTGCTG CGCGCTCGTG TTTCTGGACA TCTCCATTAA GTGGACCACC 60
CAGGAAACGT TTCCTCCAAA GTACCTTCAT TATGACGAAG AAACCTCTCA TCAGCTGTTG 120
TGTGACAAAT GTCCTCCTGG TACCTACCTA AAACAACACT GTACAGCAAA GTGGAAGACC 180
GTGTGCGCCC CTTGCCCTGA CCACTACTAC ACAGACAGCT GGCACACCAG TGACGAGTGT 240
CTATACCTAG TCTAG 255

配列番号 : 1 0 4

配列の長さ : 1 3 1 7

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 2

トポロジー：直鎖状

配列の種類：g e n o m i c DNA (ヒトOCIFゲノムDNA-1)

配列：

```

CTGGAGACAT ATAACTTGAA CACTTGGCCC TGATGGGGAA GCAGCTCTGC AGGGACTTTT 60
TCAGCCATCT GTAAACAATT TCAGTGGCAA CCCGCGAACT GTAATCCATG AATGGGACCA 120
CACTTTACAA GTCATCAAGT CTAAGTTCTA GACCAGGGAA TTAATGGGGG AGACAGCGAA 180
CCCTAGAGCA AAGTGCCAAA CTTCTGTCTG TAGCTTGAGG CTAGTGGAAA GACCTCGAGG 240
AGGCTACTCC AGAAGTTCAG CGCGTAGGAA GCTCCGATAC CAATAGCCCT TTGATGATGG 300
TGGGGTTGGT GAAGGGAACA GTGCTCCGCA AGGTTATCCC TGCCCCAGGC AGTCCAATTT 360
TCACTCTGCA GATTCTCTCT GGCTCTAACT ACCCCAGATA ACAAGGAGTG AATGCAGAAT 420
AGCACGGGCT TTAGGGCCAA TCAGACATTA GTTAGAAAAA TTCCTACTAC ATGGTTTATG 480
TAAACTTGAA GATGAATGAT TGCGAACTCC CCGAAAAGGG CTCAGACAAT GCCATGCATA 540
AAGAGGGGCC CTGTAATTTG AGGTTTCAGA ACCCGAAGTG AAGGGGTCAG GCAGCCGGGT 600
ACGGCGGAAA CTCACAGCTT TCGCCCAGCG AGAGGACAAA GGTCTGGGAC AACTCCAAC 660
TGCGTCCGGA TCTTGGCTGG ATCGGACTCT CAGGGTGGAG GAGACACAAG CACAGCAGCT 720
GCCCAGCGTG TGCCCAGCCC TCCCACCGCT GGTCCCGGCT GCCAGGAGGC TGGCCGCTGG 780
CGGGAAGGGG CCGGGAACC TCAGAGCCCC GCGGAGACAG CAGCCGCCTT GTTCCTCAGC 840
CCGGTGGCTT TTTTTCCTCC TGCTCTCCCA GGGGACAGAC ACCACCGCCC CACCCCTCAC 900
GCCCCACCTC CCTGGGGGAT CCTTTCGGCC CCAGCCCTGA AAGCGTTAAT CCTGGAGCTT 960
TCTGCACACC CCCCGACCGC TCCCGCCCAA GCTTCCTAAA AAAGAAAGGT GCAAAGTTTG 1020
GTCCAGGATA GAAAAATGAC TGATCAAAGG CAGGCGATAC TTCCTGTTGC CGGGACGCTA 1080
TATATAACGT GATGAGCGCA CGGGCTGCGG AGACGCACCG GAGCGCTCGC CCAGCCGCCG 1140
CCTCCAAGCC CCTGAGGTTT CCGGGGACCA CA ATG AAC AAG TTG CTG TGC TGC 1193

```

Met Asn Lys Leu Leu Cys Cys

-20

-15

GCG CTC GTG GTAAGTCCCT GGGCCAGCCG ACGGGTGCCC GCGCCTGGG

1242

Ala Leu Val

GAGGCTGCTG CCACCTGGTC TCCCAACCTC CCAGCGGACC GCGGGGAAA AAGGCTCCAC 1302
 TCGCTCCCTC CCAAG 1317

配列番号 : 1 0 5

配列の長さ :

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 2

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : g e n o m i c DNA (ヒト O C I F ゲノム DNA - 2)

配列 :

GCTTACTTTG TGCCAAATCT CATTAGGCTT AAGGTAATAC AGGACTTTGA GTCAAATGAT 60
 ACTGTTGCAC ATAAGAACAA ACCTATTTTC ATGCTAAGAT GATGCCACTG TGTTCTTTTC 120
 TCCTTCTAG TTT CTG GAC ATC TCC ATT AAG TGG ACC ACC CAG GAA ACG TTT 171

Phe Leu Asp Ile Ser Ile Lys Trp Thr Thr Gln Glu Thr Phe

-10

-5

-1 +1

CCT CCA AAG TAC CTT CAT TAT GAC GAA GAA ACC TCT CAT CAG CTG TTG 219
 Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His Gln Leu Leu

5

10

15

TGT GAC AAA TGT CCT CCT GGT ACC TAC CTA AAA CAA CAC TGT ACA GCA 267
 Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His Cys Thr Ala
 20 25 30 35

| | |
|---|-----|
| AAG TGG AAG ACC GTG TGC GCC CCT TGC CCT GAC CAC TAC TAC ACA GAC | 315 |
| Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr Tyr Thr Asp | |
| 40 45 50 | |
| AGC TGG CAC ACC AGT GAC GAG TGT CTA TAC TGC AGC CCC GTG TGC AAG | 363 |
| Ser Trp His Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro Val Cys Lys | |
| 55 60 65 | |
| GAG CTG CAG TAC GTC AAG CAG GAG TGC AAT CGC ACC CAC AAC CGC GTG | 411 |
| Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His Asn Arg Val | |
| 70 75 80 | |
| TGC GAA TGC AAG GAA GGG CGC TAC CTT GAG ATA GAG TTC TGC TTG AAA | 459 |
| Cys Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Ile Glu Phe Cys Leu Lys | |
| 85 90 95 | |
| CAT AGG AGC TGC CCT CCT GGA TTT GGA GTG GTG CAA GCT G GTACGTGTCA | 509 |
| His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala | |
| 100 105 110 | |
| ATGTGCAGCA AAATTAATTA GGATCATGCA AAGTCAGATA GTTGTGACAG TTTAGGAGAA | 569 |
| CACTTTTGTGTT CTGATGACAT TATAGGATAG CAAATTGCAA AGGTAATGAA ACCTGCCAGG | 629 |
| TAGGTACTAT GTGTCTGGAG TGCTTCCAAA GGACCATTGC TCAGAGGAAT ACTTTGCCAC | 689 |
| TACAGGGCAA TTTAATGACA AATCTCAAAT GCAGCAAATT ATTCTCTCAT GAGATGCATG | 749 |
| ATGGTTTTTTT TTTTTTTTTT TAAAGAAACA AACTCAAGTT GCACTATTGA TAGTTGATCT | 809 |
| ATACCTCTAT ATTTCACTTC AGCATGGACA CCTTCAAAC TGCAGCACTTT TTGACAAACA | 869 |
| TCAGAAATGT TAATTTATAC CAAGAGAGTA ATTATGCTCA TATTAATGAG ACTCTGGAGT | 929 |
| GCTAACAATA AGCAGTTATA ATTAATTATG TAAAAAATGA GAATGGTGAG GGGAATTGCA | 989 |

| | |
|--|------|
| TTTCATTATT AAAACAAGG CTAGTTCTTC CTTTAGCATG GGAGCTGAGT GTTTGGGAGG | 1049 |
| GTAAGGACTA TAGCAGAATC TCTTCAATGA GCTTATTCTT TATCTTAGAC AAAACAGATT | 1109 |
| GTCAAGCCAA GAGCAAGCAC TTGCCTATAA ACCAAGTGCT TTCTCTTTTG CATTTTGAAC | 1169 |
| AGCATTGGTC AGGGCTCATG TGTATTGAAT CTTTTAAACC AGTAACCCAC GTTTTTTTTC | 1229 |
| TGCCACATTT GCGAAGCTTC AGTGCAGCCT ATAACCTTTC ATAGCTTGAG AAAATTAAGA | 1289 |
| GTATCCACTT ACTTAGATGG AAGAAGTAAT CAGTATAGAT TCTGATGACT CAGTTTGAAG | 1349 |
| CAGTGTCTTCT CAACTGAAGC CCTGCTGATA TTTTAAGAAA TATCTGGATT CCTAGGCTGG | 1409 |
| ACTCCTTTTT GTGGGCAGCT GTCCTGCGCA TTGTAGAATT TTGGCAGCAC CCCTGGACTC | 1469 |
| TAGCCACTAG ATACCAATAG CAGTCCTTCC CCCATGTGAC AGCCAAAAAT GTCTTCAGAC | 1529 |
| ACTGTCAAAT GTCGCCAGGT GGCAAAATCA CTCCTGGTTG AGAACAGGGT CATCAATGCT | 1589 |
| AAGTATCTGT AACTATTTTA ACTCTCAAAA CTTGTGATAT ACAAAGTCTA AATTATTAGA | 1649 |
| CGACCAATAC TTTAGGTTTA AAGGCATACA AATGAAACAT TCAAAAATCA AAATCTATTC | 1709 |
| TGTTTCTCAA ATAGTGAATC TTATAAAATT AATCACAGAA GATGCAAATT GCATCAGAGT | 1769 |
| CCCTTAAAAAT TCCTCTTCGT ATGAGTATTT GAGGGAGGAA TTGGTGATAG TTCCTACTTT | 1829 |
| CTATTGGATG GTACTTTGAG ACTCAAAAGC TAAGCTAAGT TGTGTGTGTG TCAGGGTGCG | 1889 |
| GGGTGTGGAA TCCCATCAGA TAAAAGCAAA TCCATGTAAT TCATTCAAGTA AGTTGTATAT | 1949 |
| GTAGAAAAAT GAAAAGTGGG CTATGCAGCT TGGAACTAG AGAATTTTGA AAAATAATGG | 2009 |
| AAATCACAAG GATCTTTCTT AAATAAGTAA GAAAATCTGT TTGTAGAATG AAGCAAGCAG | 2069 |
| GCAGCCAGAA GACTCAGAAC AAAAGTACAC ATTTTACTCT GTGTACACTG GCAGCACAGT | 2129 |
| GGGATTTATT TACCTCTCCC TCCCTAAAAA CCCACACAGC GGTTCCTCTT GGGAAATAAG | 2189 |
| AGGTTTCCAG CCCAAAGAGA AGGAAAGACT ATGTGGTGTT ACTCTAAAAA GTATTTAATA | 2249 |
| ACCGTTTTGT TGTGCTGTT GCTGTTTTGA AATCAGATTG TCTCCTCTCC ATATTTTATT | 2309 |
| TACTTCATTC TGTTAATTCC TGTGGAATTA CTTAGAGCAA GCATGGTGAA TTCTCAACTG | 2369 |
| TAAAGCCAAA TTTCTCCATC ATTATAATTT CACATTTTGC CTGGCAGGTT ATAATTTTAA | 2429 |
| TATTTCCACT GATAGTAATA AGGTAAAATC ATTACTTAGA TGGATAGATC TTTTTCATAA | 2489 |
| AAAGTACCAT CAGTTATAGA GGGAAGTCAT GTTCATGTTT AGGAAGGTCA TTAGATAAAG | 2549 |
| CTTCTGAATA TATTATGAAA CATTAGTTCT GTCATTCTTA GATTCTTTTT GTTAAATAAC | 2609 |
| TTTAAAAGCT AACTTACCTA AAAGAAATAT CTGACACATA TGAACCTTCTC ATTAGGATGC | 2669 |

AGGAGAAGAC CCAAGCCACA GATATGTATC TGAAGAATGA ACAAGATTCT TAGGCCCCGGC 2729
ACGGTGGCTC ACATCTGTAA TCTCAAGAGT TTGAGAGGTC AAGGCGGGCA GATCACCTGA 2789
GGTCAGGAGT TCAAGACCAG CCTGGCCAAC ATGATGAAAC CCTGCCTCTA CTAAAAATAC 2849
AAAAATTAGC AGGGCATGGT GGTGCATGCC TGCAACCCTA GCTACTCAGG AGGCTGAGAC 2909
AGGAGAATCT CTTGAACCCT CGAGGCGGAG GTTGTGGTGA GCTGAGATCC CTCTACTGCA 2969
CTCCAGCCTG GGTGACAGAG ATGAGACTCC GTCCCTGCCG CCGCCCCCGC CTTCCCCCCC 3029
AAAAAGATTG TTCTTCATGC AGAACATACG GCAGTCAACA AAGGGAGACC TGGGTCCAGG 3089
TGTCCAAGTC ACTTATTTTCG AGTAAATTAG CAATGAAAGA ATGCCATGGA ATCCCTGCCC 3149
AAATACCTCT GCTTATGATA TTGTAGAATT TGATATAGAG TTGTATCCCA TTTAAGGAGT 3209
AGGATGTAGT AGGAAAGTAC TAAAAACAAA CACACAAACA GAAAACCCTC TTTGCTTTGT 3269
AAGGTGGTTC CTAAGATAAT GTCAGTGCAA TGCTGGAAAT AATATTTAAT ATGTGAAGGT 3329
TTTAGGCTGT GTTTTCCCTT CCTGTTCTTT TTTTCTGCCA GCCCTTTGTC ATTTTTCAG 3389
GTCAATGAAT CATGTAGAAA GAGACAGGAG ATGAAACTAG AACCAGTCCA TTTTGCCCCC 3449
TTTTTTATTT TCTGGTTTTG GTAAAAGATA CAATGAGGTA GGAGGTTGAG ATTTATAAAT 3509
GAAGTTTAAT AAGTTTCTGT AGCTTTGATT TTTCTCTTTC ATATTGTGTA TCTTGCATAA 3569
GCCAGAATTG GCCTGTAAAA TCTACATATG GATATTGAAG TCTAAATCTG TTCAACTAGC 3629
TTACACTAGA TGGAGATATT TTCATATTCA GATACACTGG AATGTATGAT CTAGCCATGC 3689
GTAATATAGT CAAGTGTTTG AAGGTATTTA TTTTAAATAG CGTCTTTAGT TGTGGACTGG 3749
TTCAAGTTTT TCTGCCAATG ATTTCTTCAA ATTTATCAAA TATTTTCCA TCATGAAGTA 3809
AAATGCCCTT GCAGTCACCC TTCCTGAAGT TTGAACGACT CTGCTGTTTT AACAGTTTA 3869
AGCAAATGGT ATATCATCTT CCGTTTACTA TGTAGCTTAA CTGCAGGCTT ACGCTTTTGA 3929
GTCAGCGGCC AACTTTATTG CCACCTTCAA AAGTTTATTA TAATGTTGTA AATTTTACT 3989
TCTCAAGGTT AGCATACTTA GGAGTTGCTT CACAATTAGG ATTCAGGAAA GAAAGAAGTT 4049
CAGTAGGAAC TGATTGGAAT TTAATGATGC AGCATTCAAT GGGTACTAAT TTCAAAGAAT 4109
GATATTACAG CAGACACACA GCAGTTATCT TGATTTTCTA GGAATAATTG TATGAAGAAT 4169
ATGGCTGACA ACACGGCCTT ACTGCCACTC AGCGGAGGCT GGACTAATGA ACACCCTACC 4229
CTTCTTTCCT TTCCTCTCAC ATTTTCATGAG CGTTTTGTAG GTAACGAGAA AATTGACTTG 4289
CATTTGCATT ACAAGGAGGA GAAACTGGCA AAGGGGATGA TGGTGGAAGT TTTGTTCTGT 4349

| | |
|--|------|
| CTAATGAAGT GAAAAATGAA AATGCTAGAG TTTTGTGCAA CATAATAGTA GCAGTAAAAA | 4409 |
| CCAAGTGAAA AGTCTTTCCA AAACGTGTGT AAGAGGGCAT CTGCTGGGAA ACGATTTGAG | 4469 |
| GAGAAGGTAC TAAATTGCTT GGTATTTTCC GTAG GA ACC CCA GAG CGA AAT ACA | 4523 |
| Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr | |
| 115 | |
| GTT TGC AAA AGA TGT CCA GAT GGG TTC TTC TCA AAT GAG ACG TCA TCT | 4571 |
| Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser | |
| 120 | 125 |
| | 130 |
| | 135 |
| AAA GCA CCC TGT AGA AAA CAC ACA AAT TGC AGT GTC TTT GGT CTC CTG | 4619 |
| Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu | |
| 140 | 145 |
| | 150 |
| CTA ACT CAG AAA GGA AAT GCA ACA CAC GAC AAC ATA TGT TCC GGA AAC | 4667 |
| Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr His Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn | |
| 155 | 160 |
| | 165 |
| AGT GAA TCA ACT CAA AAA TGT GGA ATA G GTAATTACAT TCCAAAATAC | 4715 |
| Ser Glu Ser Thr Gln Lys Cys Gly Ile | |
| 170 | 175 |
| GTCTTTGTAC GATTTTGTAG TATCATCTCT CTCTCTGAGT TGAACACAAG GCCTCCAGCC | 4775 |
| ACATTCTTGG TCAAACCTTAC ATTTTCCCTT TCTTGAATCT TAACCAGCTA AGGCTACTCT | 4835 |
| CGATGCATTA CTGCTAAAGC TACCACTCAG AATCTCTCAA AAACCTCATCT TCTCACAGAT | 4895 |
| AACACCTCAA AGCTTGATTT TCTCTCCTTT CACACTGAAA TCAAATCTTG CCCATAGGCA | 4955 |
| AAGGGCAGTG TCAAGTTTGC CACTGAGATG AAATTAGGAG AGTCCAAACT GTAGAATTCA | 5015 |
| CGTTGTGTGT TATTACTTTC ACGAATGTCT GTATTATTAA CTAAAGTATA TATTGGCAAC | 5075 |

| | |
|--|------|
| TAAGAAGCAA AGTGATATAA ACATGATGAC AAATTAGGCC AGGCATGGTG GCTTACTCCT | 5185 |
| ATAATCCCAA CATTTTGGGG GGCCAAGGTA GGCAGATCAC TTGAGGTCAG GATTTCAAGA | 5195 |
| CCAGCCTGAC CAACATGGTG AAACCTTGTC TCTACTAAAA ATACAAAAAT TAGCTGGGCA | 5255 |
| TGGTAGCAGG CACTTCTAGT ACCAGCTACT CAGGGCTGAG GCAGGAGAAT CGCTTGAACC | 5315 |
| CAGGAGATGG AGGTTGCAGT GAGCTGAGAT TGTACCACTG CACTCCAGTC TGGGCAACAG | 5375 |
| AGCAAGATTT CATCACACAC ACACACACAC ACACACACAC ACACATTAGA AATGTGTACT | 5435 |
| TGGCTTTGTT ACCTATGGTA TTAGTGCATC TATTGCATGG AACTTCCAAG CTACTCTGGT | 5495 |
| TGTGTTAAGC TCTTCATTGG GTACAGGTCA CTAGTATTAA GTTCAGGTTA TTCGGATGCA | 5555 |
| TTCCACGGTA GTGATGACAA TTCATCAGGC TAGTGTGTGT GTTCACCTTG TCACTCCGAC | 5615 |
| CACTAGACTA ATCTCAGACC TTCACTCAAA GACACATTAC ACTAAAGATG ATTIGCTTTT | 5675 |
| TTGTGTTTAA TCAAGCAATG GTATAAACCA GCTTGACTCT CCCCAAACAG TTTTTCGTAC | 5735 |
| TACAAAGAAG TTTATGAAGC AGAGAAATGT GAATTGATAT ATATATGAGA TTCTAACCCA | 5795 |
| GTTCCAGCAT TGTTTCATTG TGTAATTGAA ATCATAGACA AGCCATTTTA GCCTTTGCTT | 5855 |
| TCTTATCTAA AAAAAAAAAA AAAAAAATGA AGGAAGGGGT ATTAAAGGA GTGATCAAA | 5915 |
| TTTAACATTC TCTTTAATTA ATTCATTTTT AATTTTACTT TTTTTCATT ATTGTGCACT | 5975 |
| TACTATGTGG TACTGTGCTA TAGAGGCTTT AACATTTATA AAAACACTGT GAAAGTTGCT | 6035 |
| TCAGATGAAT ATAGGTAGTA GAACGGCAGA ACTAGTATTC AAAGCCAGGT CTGATGAATC | 6095 |
| CAAAAACAAA CACCCATTAC TCCCATTTTC TGGGACATAC TTA CTCTACC CAGATGCTCT | 6155 |
| GGGCTTTGTA ATGCCTATGT AAATAACATA GTTTTATGTT TGGTTATTTT CCTATGTAAT | 6215 |
| GTCTACTTAT ATATCTGTAT CTATCTCTTG CTTTGTTCCT AAAGGTAAAC TATGTGTCTA | 6275 |
| AATGTGGGCA AAAAATAACA CACTATTCCA AATTACTGTT CAAATTCCTT TAAGTCAGTG | 6335 |
| ATAATTATTT GTTTTGACAT TAATCATGAA GTTCCCTGTG GGTACTAGGT AAACCTTTAA | 6395 |
| TAGAATGTTA ATGTTTGTAT TCATTATAAG AATTTTTGGC TGTTACTTAT TTACAACAAT | 6455 |
| ATTTCACTCT AATTAGACAT TTAATAAAT TTCTCTTGAA AACAATGCCC AAAAAAGAAC | 6515 |
| ATTAGAAGAC ACGTAAGCTC AGTTGGTCTC TGCCACTAAG ACCAGCCAAC AGAAGCTTGA | 6575 |
| TTTTATTCAA ACTTTGCATT TTAGCATATT TTATCTTGGA AAATTCAATT GTGTTGGTTT | 6635 |
| TTTGTTTTTG TTTGTATTGA ATAGACTCTC AGAAATCCAA TTGTTGAGTA AATCTTCTGG | 6695 |
| GTTTTCTAAC CTTTCTTTAG AT GTT ACC CTG TGT GAG GAG GCA TTC TTC AGG | 6747 |

Asp Val Thr Leu Cys Glu Glu Ala Phe Phe Arg

180

185

TTT GCT GTT CCT ACA AAG TTT ACG CCT AAC TGG CTT AGT GTC TTG GTA 6795
Phe Ala Val Pro Thr Lys Phe Thr Pro Asn Trp Leu Ser Val Leu Val
190 195 200

GAC AAT TTG CCT GGC ACC AAA GTA AAC GCA GAG AGT GTA GAG AGG ATA 6843
Asp Asn Leu Pro Gly Thr Lys Val Asn Ala Glu Ser Val Glu Arg Ile
205 210 215

AAA CGG CAA CAC AGC TCA CAA GAA CAG ACT TTC CAG CTG CTG AAG TTA 6891
Lys Arg Gln His Ser Ser Gln Glu Gln Thr Phe Gln Leu Leu Lys Leu
220 225 230 235

TGG AAA CAT CAA AAC AAA GAC CAA GAT ATA GTC AAG AAG ATC ATC CAA G 6940
Trp Lys His Gln Asn Lys Asp Gln Asp Ile Val Lys Lys Ile Ile Gln
240 245 250

GTAATTACAT TCCAAAATAC GTCTTTGTAC GATTTTGTAG TATCATCTCT CTCTCTGAGT 7000
TGAACACAAG GCCTCCAGCC ACATTCTTGG TCAAACCTTAC ATTTTCCCTT TCTTGAATCT 7060
TAACCAGCTA AGGCTACTCT CGATGCATTA CTGCTAAAGC TACCACTCAG AATCTCTCAA 7120
AAACTCATCT TCTCACAGAT AACACCTCAA AGCTTGATTT TCTCTCCTTT CACACTGAAA 7180
TCAAATCTTG CCCATAGGCA AAGGGCAGTG TCAAGTTTGC CACTGAGATG AAATTAGGAG 7240
AGTCCAAACT GTAGAATTCA CGTTGTGTGT TATTACTTTC ACGAATGTCT GTATTATTAA 7300
CTAAAGTATA TATTGGCAAC TAAGAAGCAA AGTGATATAA ACATGATGAC AAATTAGGCC 7360
AGGCATGGTG GCTTACTCCT ATAATCCCAA CATTTTGGGG GGCCAAGGTA GGCAGATCAC 7420
TTGAGGTCAG GATTTCAAGA CCAGCCTGAC CAACATGGTG AAACCTTGTC TCTACTAAAA 7480

ATACAAAAAT TAGCTGGGCA TGGTAGCAGG CACTTCTAGT ACCAGCTACT CAGGGCTGAG 7540
 GCAGGAGAAT CGCTTGAACC CAGGAGATGG AGGTTGCAGT GAGCTGAGAT TGTACCACTG 7600
 CACTCCAGTC TGGGCAACAG AGCAAGATTT CATCACACAC ACACACACAC ACACACACAC 7660
 ACACATTAGA AATGTGTACT TGGCTTTGTT ACCTATGGTA TTAGTGCATC TATTGCATGG 7720
 AACTTCCAAG CTACTCTGGT TGTGTTAAGC TCTTCATTGG GTACAGGTCA CTAGTATTAA 7780
 GTTCAGGTTA TTCGGATGCA TTCCACGGTA GTGATGACAA TTCATCAGGC TAGTGTGTGT 7840
 GTTCACCTTG TCACTCCAC CACTAGACTA ATCTCAGACC TTCACTCAA GACACATTAC 7900
 ACTAAAGATG ATTTGCTTTT TTGTGTTTAA TCAAGCAATG GTATAAACCA GCTTGACTCT 7960
 CCCCAAACAG TTTTTCGTAC TACAAAGAAG TTTATGAAGC AGAGAAATGT GAATTGATAT 8020
 ATATATGAGA TTCTAACCCA GTTCCAGCAT TGTTTCATTG TGTAATTGAA ATCATAGACA 8080
 AGCCATTTTA GCCTTTGCTT TCTTATCTAA AAAAAAAAAA AAAAAAATGA AGGAAGGGGT 8140
 ATTAAAAGGA GTGATCAAAT TTAAACATTC TCTTTAATTA ATTCATTTTT AATTTTACTT 8200
 TTTTTCATTT ATTGTGCACT TACTATGTGG TACTGTGCTA TAGAGGCTTT AACATTTATA 8260
 AAAACACTGT GAAAGTTGCT TCAGATGAAT ATAGGTAGTA GAACGGCAGA ACTAGTATTC 8320
 AAAGCCAGGT CTGATGAATC CAAAAACAAA CACCCATTAC TCCCATTTTC TGGGACATAC 8380
 TTA CTCTACC CAGATGCTCT GGGCTTTGTA ATGCCTATGT AAATAACATA GTTTTATGTT 8440
 TGGTTATTTT CCTATGTAAT GTCTACTTAT ATATCTGTAT CTATCTCTTG CTTTGTTTCC 8500
 AAAGGTAAAC TATGTGTCTA AATGTGGGCA AAAAATAACA CACTATTCCA AATTACTGTT 8560
 CAAATTCCTT TAAGTCAGTG ATAATTATTT GTTTTGACAT TAATCATGAA GTTCCCTGTG 8620
 GGTACTAGGT AAACCTTTAA TAGAATGTTA ATGTTTGTAT TCATTATAAG AATTTTTGGC 8680
 TGTTACTTAT TTACAACAAT ATTTCACTCT AATTAGACAT TTA CTAACT TTCTCTTGAA 8740
 AACAATGCCC AAAAAAGAAC ATTAGAAGAC ACGTAAGCTC AGTTGGTCTC TGCCACTAAG 8800
 ACCAGCCAAC AGAAGCTTGA TTTTATTCAA ACTTTGCATT TTAGCATATT TTATCTTGGA 8860
 AAATTCAATT GTGTTGGTTT TTTGTTTTTG TTTGTATTGA ATAGACTCTC AGAAATCCAA 8920
 TTGTTGAGTA AATCTTCTGG GTTTTCTAAC CTTTCTTTAG A1 ATT GAC CTC TGT 8974

Asp Ile Asp Leu Cys

255

| | |
|---|------|
| GAA AAC AGC GTG CAG CGG CAC ATT GGA CAT GCT AAC CTC ACC TTC GAG | 9022 |
| Glu Asn Ser Val Gln Arg His Ile Gly His Ala Asn Leu Thr Phe Glu | |
| 260 265 270 | |
| CAG CTT CGT AGC TTG ATG GAA AGC TTA CCG GGA AAG AAA GTG GGA GCA | 9070 |
| Gln Leu Arg Ser Leu Met Glu Ser Leu Pro Gly Lys Lys Val Gly Ala | |
| 275 280 285 | |
| GAA GAC ATT GAA AAA ACA ATA AAG GCA TGC AAA CCC AGT GAC CAG ATC | 9118 |
| Glu Asp Ile Glu Lys Thr Ile Lys Ala Cys Lys Pro Ser Asp Gln Ile | |
| 290 295 300 | |
| CTG AAG CTG CTC AGT TTG TGG CGA ATA AAA AAT GGC GAC CAA GAC ACC | 9166 |
| Leu Lys Leu Leu Ser Leu Trp Arg Ile Lys Asn Gly Asp Gln Asp Thr | |
| 305 310 315 320 | |
| TTG AAG GGC CTA ATG CAC GCA CTA AAG CAC TCA AAG ACG TAC CAC TTT | 9214 |
| Leu Lys Gly Leu Met His Ala Leu Lys His Ser Lys Thr Tyr His Phe | |
| 325 330 335 | |
| CCC AAA ACT GTC ACT CAG AGT CTA AAG AAG ACC ATC AGG TTC CTT CAC | 9262 |
| Pro Lys Thr Val Thr Gln Ser Leu Lys Lys Thr Ile Arg Phe Leu His | |
| 340 345 350 | |
| AGC TTC ACA ATG TAC AAA TTG TAT CAG AAG TTA TTT TTA GAA ATG ATA | 9310 |
| Ser Phe Thr Met Tyr Lys Leu Tyr Gln Lys Leu Phe Leu Glu Met Ile | |
| 355 360 365 | |

GGT AAC CAG GTC CAA TCA GTA AAA ATA AGC TGC TTA TAACTGGAAA 9356
 Gly Asn Gln Val Gln Ser Val Lys Ile Ser Cys Leu
 370 375 380

TGGCCATTGA GCTGTTTCCT CACAATTGGC GAGATCCCAT GGATGAGTAA ACTGTTTCTC 9416
 AGGCACTTGA GGCTTTCAGT GATATCTTTC TCATTACCAG TGACTAATTT TGCCACAGGG 9476
 TACTAAAAGA AACTATGATG TGGAGAAAGG ACTAACATCT CCTCCAATAA ACCCCAAATG 9536
 GTTAATCCAA CTGTCAGATC TGGATCGTTA TCTACTGACT ATATTTTCCC TTATTACTGC 9596
 TTGCAGTAAT TCAACTGGAA ATTAAAAAAA AAAAACTAGA CTCCACTGGG CCTTACTAAA 9656
 TATGGGAATG TCTAACTTAA ATAGCTTTGG GATTCCAGCT ATGCTAGAGG CTTTTATTAG 9716
 AAAGCCATAT TTTTTTCTGT AAAAGTACT AATATATCTG TAACACTATT ACAGTATTGC 9776
 TATTTATATT CATTGAGATA TAAGATTGG ACATATTATC ATCCTATAAA GAAACGGTAT 9836
 GACTTAATTT TAGAAAGAAA ATTATATTCT GTTTATTATG ACAAATGAAA GAGAAAATAT 9896
 ATATTTTTTAA TGGAAAGTTT GTAGCATTTT TCTAATAGGT ACTGCCATAT TTTTCTGTGT 9956
 GGAGTATTTT TATAATTTTA TCTGTATAAG CTGTAATATC ATTTTATAGA AAATGCATTA 10016
 TTTAGTCAAT TGTTTAATGT TGGAAAACAT ATGAAATATA AATTATCTGA ATATTAGATG 10076
 CTCTGAGAAA TTGAATGTAC CTTATTTAAA AGATTTTATG GTTTTATAAC TATATAAATG 10136
 ACATTATTAA AGTTTTCAAA TTATTTTTTA TTGCTTTCTC TGTTGCTTTT ATTT 10190

請 求 の 範 囲

1. 次の物理化学的性質をもち、破骨細胞の分化及び／又は成熟抑制活性のある蛋白質。
 - (a) 分子量 (SDS-PAGEによる) ; 約60kD (還元条件下)、約60kD及び約120 kD (非還元条件下)
 - (b) 親和性 ; 陽イオン交換体及びヘパリンに親和性を有する。
 - (c) 熱安定性 ; 70℃、10分間又は56℃、30分間の加熱処理により破骨細胞の分化・成熟抑制活性が低下し、90℃、10分間の加熱処理により破骨細胞の分化・成熟抑制活性が失われる。
 - (d) アミノ酸配列 ; 内部アミノ酸配列として配列表 配列番号 1～3 のアミノ酸配列をもつ。
2. N末端配列が配列表 配列番号 7 のアミノ酸配列で示される、請求項 1 記載の蛋白質。
3. ヒト線維芽細胞が産生する、請求項 1 記載の蛋白質。
4. ヒト線維芽細胞を細胞培養し、培養液をイオン交換カラム、アフィニティークラム及び逆相カラムへの吸着及び溶出を行なって精製することを特徴とする請求項 1～3 のいずれかに記載の蛋白質の製造方法。
5. アルミナセラミック片を担体として使用して細胞培養を行なう請求項 4 記載の蛋白質の製造方法。
6. 配列表 配列番号 4 のアミノ酸配列で示される蛋白質。
7. 配列表 配列番号 4 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
8. 配列表 配列番号 6 の塩基配列で示される cDNA。
9. 配列表 配列番号 6 の塩基配列で示される cDNA と比較的温和な条件下でハイブリダイズする DNA。
10. 配列表 配列番号 4 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA が発現された蛋白質。
11. 配列表 配列番号 4 で示されるアミノ酸配列と 80% 以上の相同性を有するア

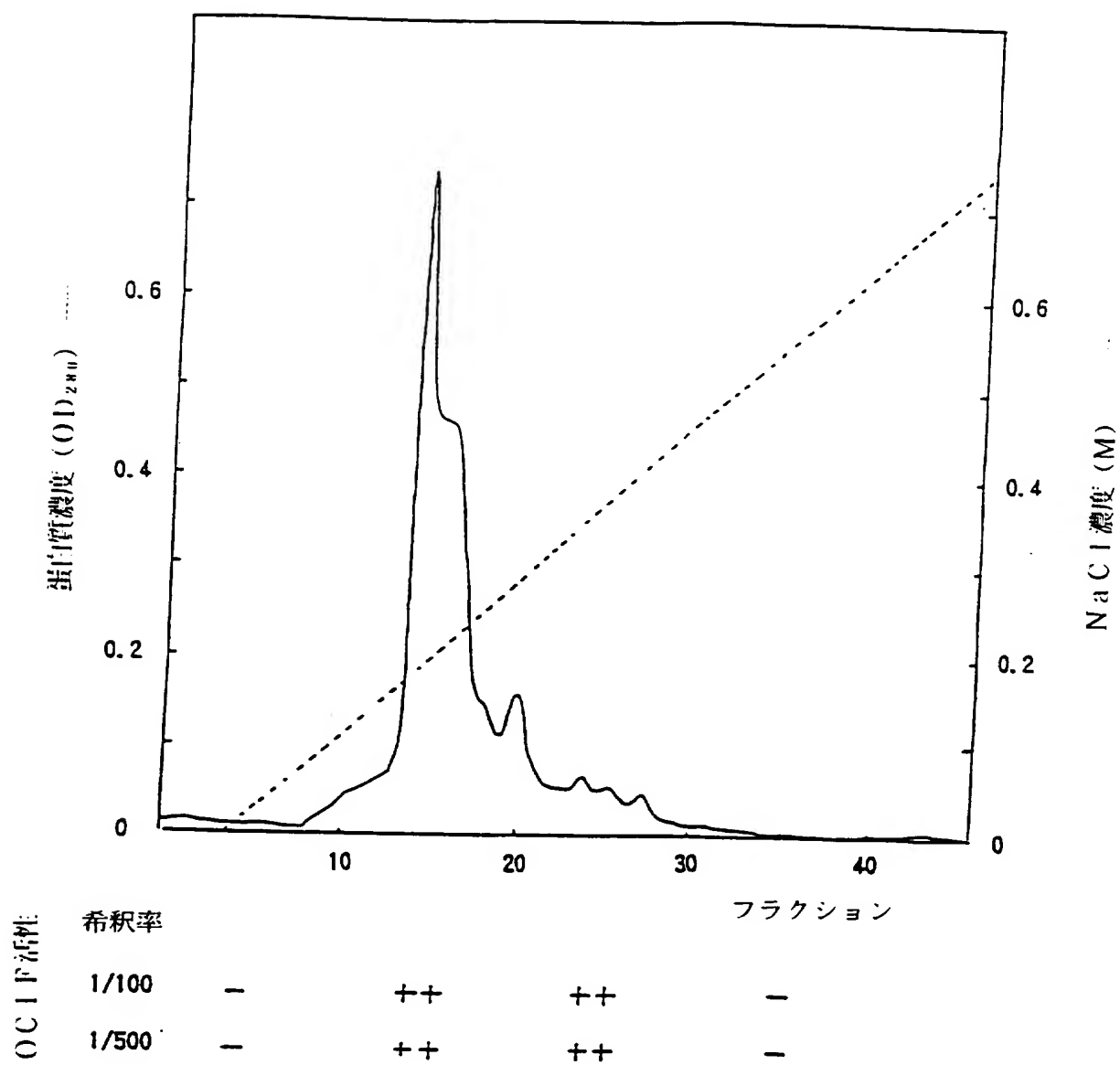
23. 配列表 配列番号 1 3 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
24. 配列表 配列番号 1 4 の塩基配列で示される c D N A。
25. 配列表 配列番号 1 4 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
26. 配列表 配列番号 1 5 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
27. 配列表 配列番号 8 3 の塩基配列で示される c D N A。
28. 配列表 配列番号 8 3 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
29. 配列表 配列番号 6 2 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
30. 配列表 配列番号 8 4 の塩基配列で示される c D N A。
31. 配列表 配列番号 8 4 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
32. 配列表 配列番号 6 3 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
33. 配列表 配列番号 8 5 の塩基配列で示される c D N A。
34. 配列表 配列番号 8 5 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
35. 配列表 配列番号 6 4 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
36. 配列表 配列番号 8 6 の塩基配列で示される c D N A。
37. 配列表 配列番号 8 6 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
38. 配列表 配列番号 6 5 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
39. 配列表 配列番号 8 7 の塩基配列で示される c D N A。
40. 配列表 配列番号 8 7 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。
41. 配列表 配列番号 6 6 で示されるアミノ酸配列をコードする c D N A。
42. 配列表 配列番号 8 8 の塩基配列で示される c D N A。
43. 配列表 配列番号 8 8 の塩基配列で示される c D N A を発現することにより得られる蛋白質。

44. 配列表 配列番号 67 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
45. 配列表 配列番号 89 の塩基配列で示される cDNA。
46. 配列表 配列番号 89 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
47. 配列表 配列番号 68 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
48. 配列表 配列番号 90 の塩基配列で示される cDNA。
49. 配列表 配列番号 90 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
50. 配列表 配列番号 69 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
51. 配列表 配列番号 91 の塩基配列で示される cDNA。
52. 配列表 配列番号 91 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
53. 配列表 配列番号 70 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
54. 配列表 配列番号 92 の塩基配列で示される cDNA。
55. 配列表 配列番号 92 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
56. 配列表 配列番号 71 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
57. 配列表 配列番号 93 の塩基配列で示される cDNA。
58. 配列表 配列番号 93 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
59. 配列表 配列番号 72 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
60. 配列表 配列番号 94 の塩基配列で示される cDNA。
61. 配列表 配列番号 94 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
62. 配列表 配列番号 73 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
63. 配列表 配列番号 95 の塩基配列で示される cDNA。
64. 配列表 配列番号 95 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。

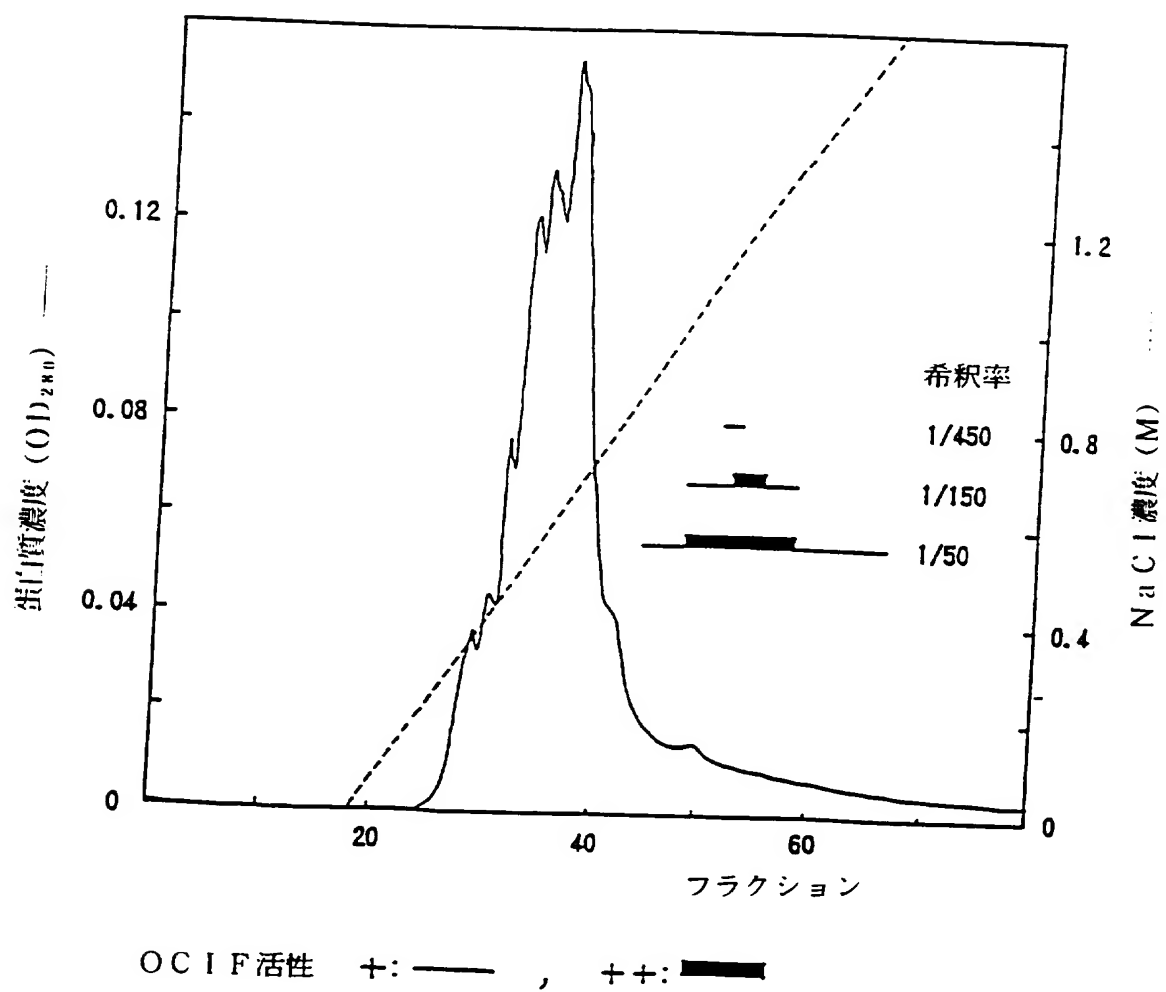
65. 配列表 配列番号 74 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
66. 配列表 配列番号 96 の塩基配列で示される cDNA。
67. 配列表 配列番号 96 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
68. 配列表 配列番号 75 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
69. 配列表 配列番号 97 の塩基配列で示される cDNA。
70. 配列表 配列番号 97 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
71. 配列表 配列番号 76 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
72. 配列表 配列番号 98 の塩基配列で示される cDNA。
73. 配列表 配列番号 98 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
74. 配列表 配列番号 77 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
75. 配列表 配列番号 99 の塩基配列で示される cDNA。
76. 配列表 配列番号 99 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
77. 配列表 配列番号 78 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
78. 配列表 配列番号 100 の塩基配列で示される cDNA。
79. 配列表 配列番号 100 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
80. 配列表 配列番号 79 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
81. 配列表 配列番号 101 の塩基配列で示される cDNA。
82. 配列表 配列番号 101 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
83. 配列表 配列番号 80 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
84. 配列表 配列番号 102 の塩基配列で示される cDNA。
85. 配列表 配列番号 102 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。

86. 配列表 配列番号 81 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
87. 配列表 配列番号 103 の塩基配列で示される cDNA。
88. 配列表 配列番号 103 の塩基配列で示される cDNA を発現することにより得られる蛋白質。
89. 配列表 配列番号 82 で示されるアミノ酸配列をコードする cDNA。
90. 配列表 配列番号 4 のアミノ酸配列をコードするゲノム DNA。
91. 配列表 配列番号 104 及び 105 の塩基配列で示される、請求項 90 記載のゲノム DNA。
92. ヒト破骨細胞形成抑制因子に対し、特異的親和性を示す抗体。
93. 抗体がポリクローナル抗体である、請求項 92 記載の抗体。
94. 抗体がモノクローナル抗体である、請求項 92 記載の抗体。
95. 分子量約 150,000、サブクラス IgG₁、IgG_{2a} 或いは IgG_{2b} である、請求項 95 記載のモノクローナル抗体。
96. 請求項 92～95 記載の抗体を用いることを特徴とする、ヒト破骨細胞形成抑制因子の測定方法。

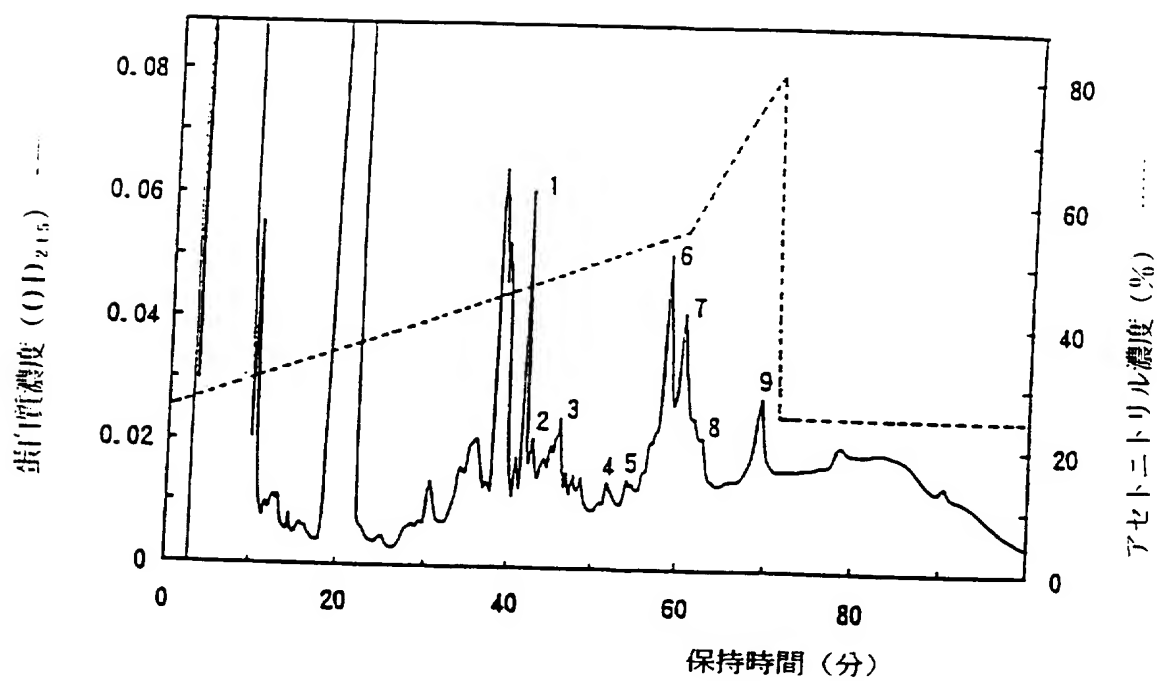
第 1 図



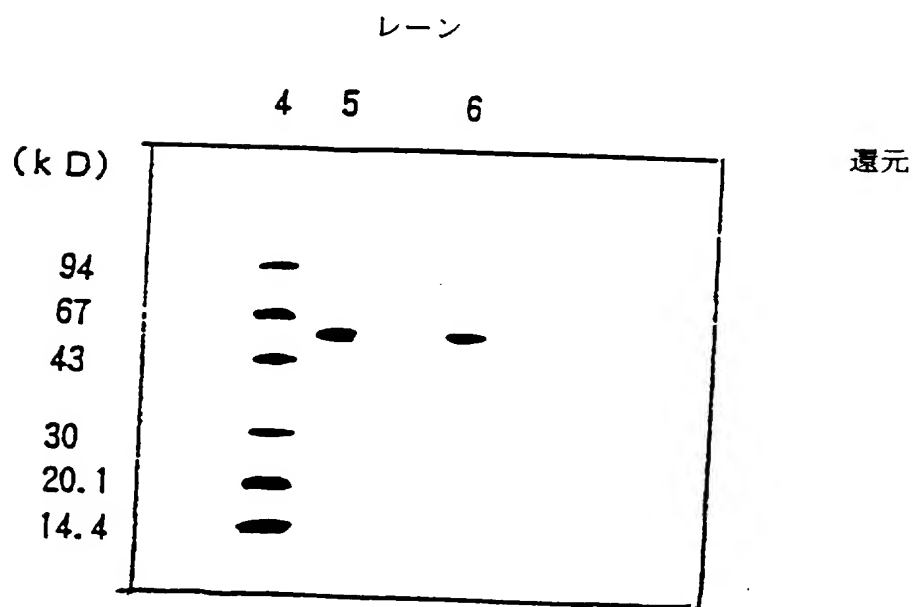
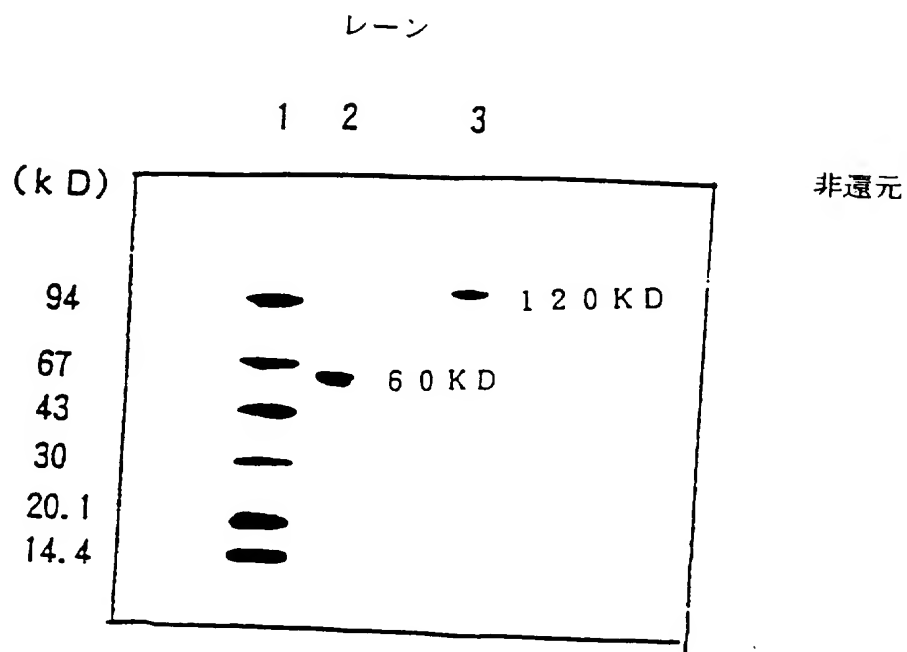
第 2 図



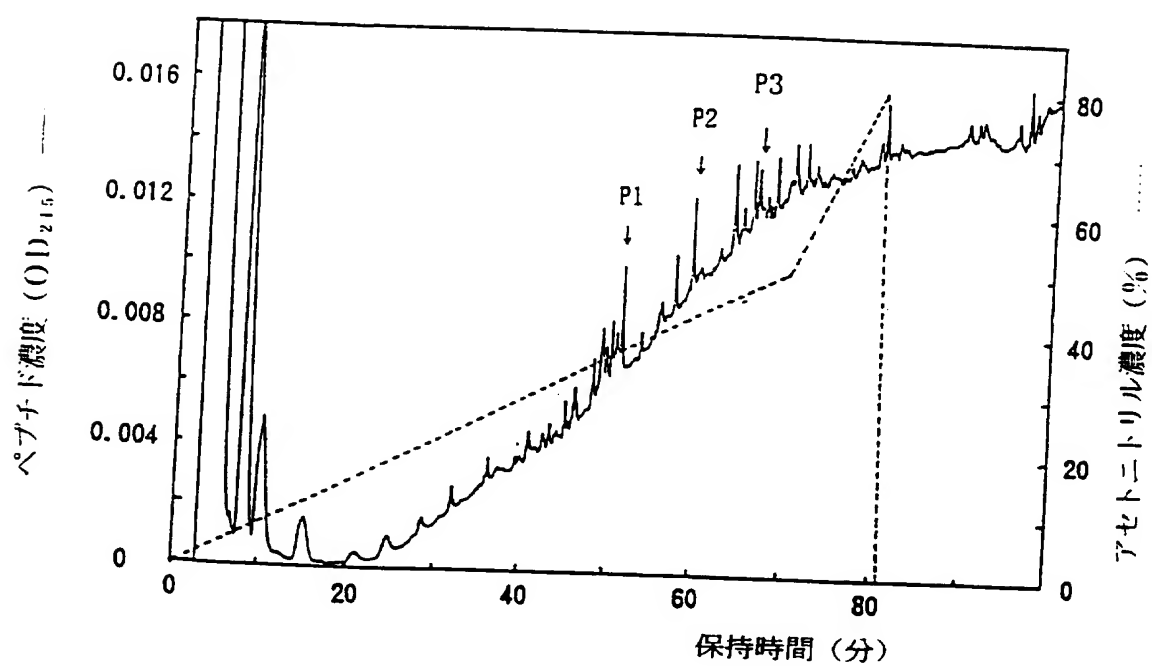
第 3 図



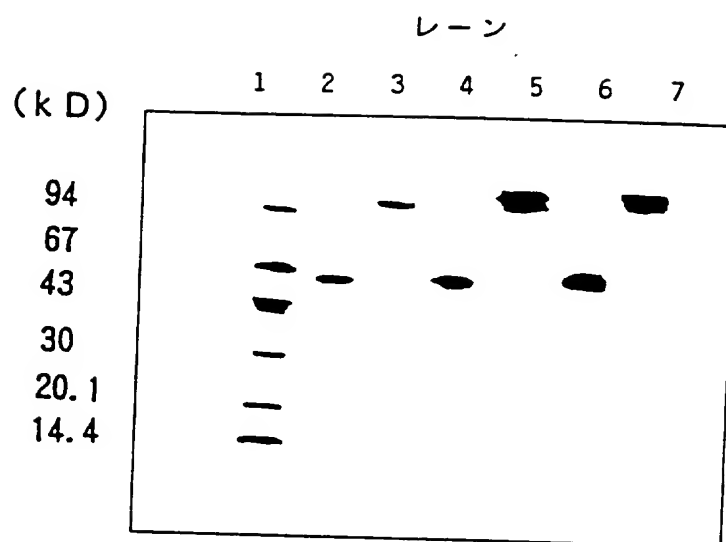
第 4 図



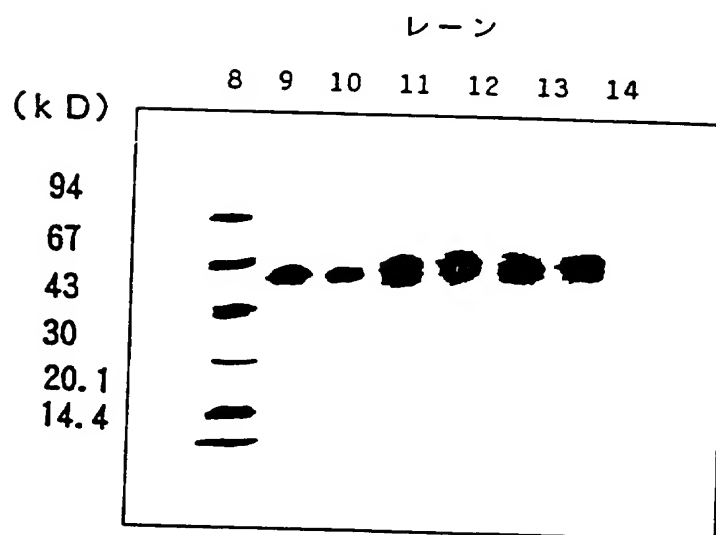
第 5 図



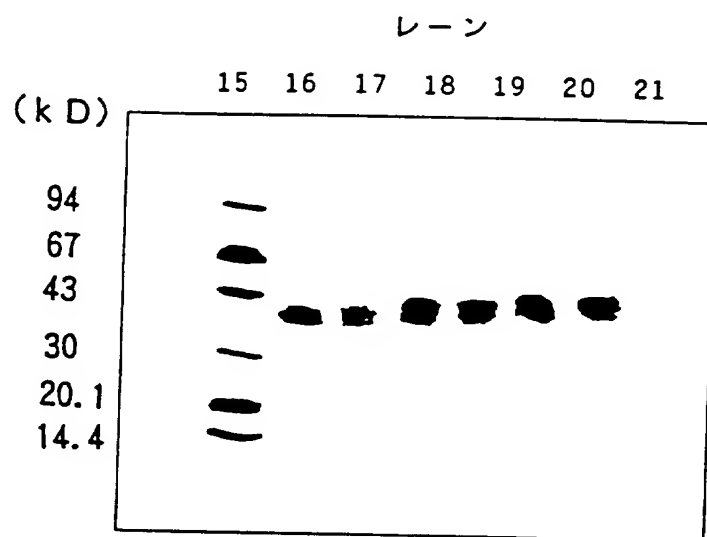
第 6 図



第 7 図



第 8 図



第 9 図

1
 MNLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF1)

 MNLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF2)
 1

61
 VCAPCPDHYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF1)

 VCAPCPDHYTDSWHTSDECLYCSPVCKE-----CNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF2)
 61

121
 HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGFFSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF1)

 HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGFFSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF2)
 114

181
 HDNICS GNSESTQKCGIDVTLCEEAFRFAVPTKFTPNWLSVLVDNLPGTKVNAESVERI (OCIF1)

 HDNICS GNSESTQKCGIDVTLCEEAFRFAVPTKFTPNWLSVLVDNLPGTKVNAESVERI (OCIF2)
 174

241
 KRQHSSQEQT FQLLKLWKHQNKDQDIVKKIIQDIDLCENSVQRHIGHANLTFEQLRSLME (OCIF1)

 KRQHSSQEQT FQLLKLWKHQNKDQDIVKKIIQDIDLCENSVQRHIGHANLTFEQLRSLME (OCIF2)
 234

301
 SLPGKKVGAEDIEKTIKACKPSDQILKLLSLWRIKNGDQDTLGLMHALKH SKTYHFPKT (OCIF1)

 SLPGKKVGAEDIEKTIKACKPSDQILKLLSLWRIKNGDQDTLGLMHALKH SKTYHFPKT (OCIF2)
 294

361
 VTQSLKKTIRFLHSFTMYKLYQKLFLEMIGNQVQSVKISCL (OCIF1)

 VTQSLKKTIRFLHSFTMYKLYQKLFLEMIGNQVQSVKISCL (OCIF2)
 354

第 1 0 図

1
MNNLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF1)
** *****
MNKLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF3)
1

61
VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF1)

VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF3)
61

121
HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGGFSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF1)

HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGGFSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF3)
121

181
HDNICSGNSESTQKCGIDVTLCEEAFRFAVPTKFTPNWLSVLVDNLPGTKVNAESVERI (OCIF1)

HDNICSGNSESTQKCGIDVTLCEEAFRFAVPTKFTPNWLSVLVDNLPGTKVNAESVERI (OCIF3)
181

241
KRQHSSQEQTFFQLLKLWKHQNKDQDIVKKIIQDIDLCENS VQRHIGHANLTFEQLRSLME (OCIF1)

KRQHSSQEQTFFQLLKLWKHQNKDQDIVKKIIQDIDLCENS VQRHIGHANLS----- (OCIF3)
241

301
SLPGKKVGAEDIEKTIKACKPSDQILKLLSLWRIKNGDQDTLKGLMHALKH SKTYHFPKT (OCIF1)

-----LWRIKNGDQDTLKGLMHALKH SKTYHFPKT (OCIF3)
292

361
VTQSLKKTIRFLHSFTMYKLYQKLFLEMIGNQVQSVKISCL (OCIF1)

VTQSLKKTIRFLHSFTMYKLYQKLFLEMIGNQVQSVKISCL (OCIF3)
322

第 1 1 図

1
MNNLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF1)
** *****
MNKLLCCSLVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF4)
1

61
VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF1)

VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF4)
61

121
HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGFSSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF1)

HRSCPPGFGVVQAGTCQCAAKLIRIMQSQIVVTV (OCIF4)
121

第 1 2 図

1
MNNLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF1)
** *****
MNKLLCCALVFLDISIKWTTQETFPKYLHYDEETSHQLLCDKCPPGTYLKQHCTAKWKT (OCIF5)
1

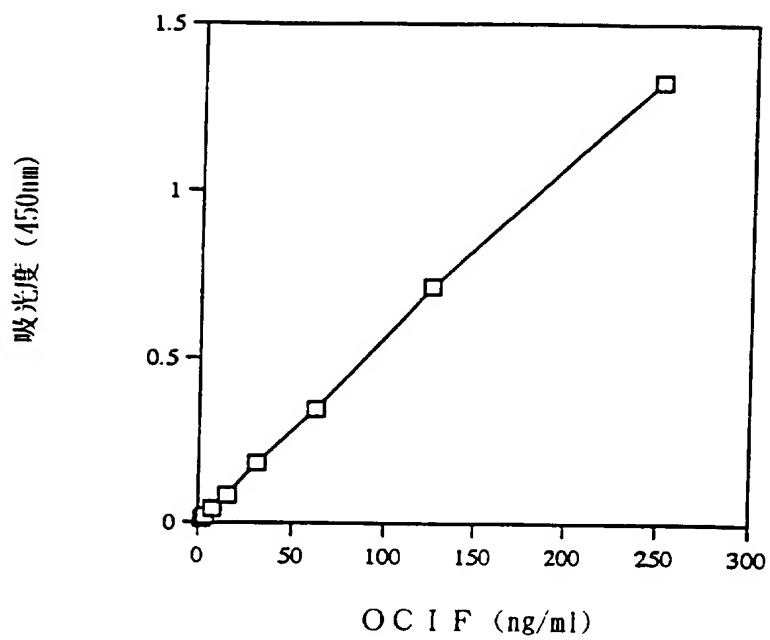
61
VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF1)

VCAPCPDHYYTDSWHTSDECLYCSPVCKELQYVKQECNRTHNRVCECKEGRYLEIEFCLK (OCIF5)
61

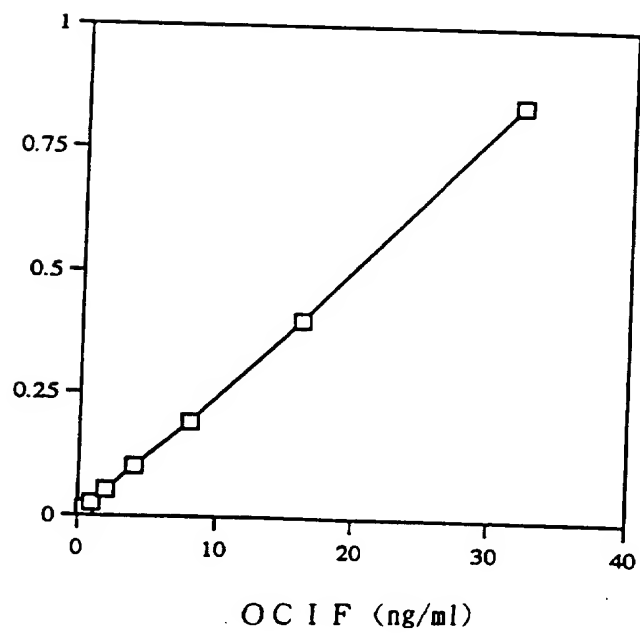
121
HRSCPPGFGVVQAGTPERN TVCKRCPDGFSSNETSSKAPCRKHTNCSVFGLLLTQKGNAT (OCIF1)

HRSCPPGFGVVQAGCRRRPKPQICI (OCIF5)
121

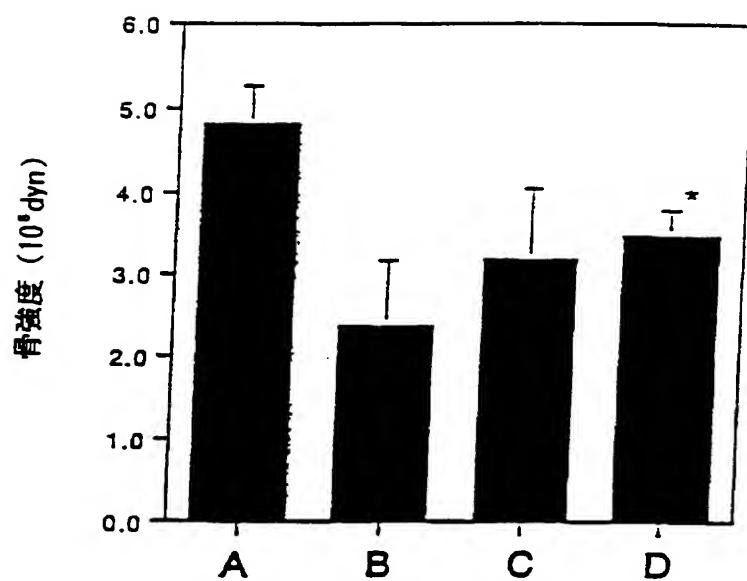
第 1 3 図



第 1 4 図



第 1 5 図



A : 正常

B : 神経切除 + 溶媒

C : 神経切除 + OCIF 10 µg/kg/day

D : 神経切除 + OCIF 100 µg/kg/day

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/00374

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07K14/52, C07K16/24, C12N15/19, C12N15/06, C12N5/08, C12N5/10, C12N5/20, C12P21/02, C12P21/08, G01N33/577
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07K14/52, C07K16/24, C12N15/19, C12N15/06, C12N5/08, C12N5/10, C12N5/20, C12P21/02, C12P21/08, G01N33/577

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, WPI, WPI/L

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| A | Fawthrop, F.W. et al. "The effect of transforming growth factor beta on the plasminogen activator activity of normal human osteoblast-like cells and a human osteosarcoma cell line MG-63", J. Bone. Miner. Res. (1992) Vol. 7, No. 12, p. 1363-1371 | 1 - 96 |
| A | Fenton, A.J. et al. "Long-term culture of disaggregated rat osteoclasts inhibition of bone resorption and reduction of osteoclast-like cell number by calcitonin and PTHrP107-139", J. Cell Physiol. (1993) Vol. 155, No. 1, p. 1-7 | 1 - 96 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

May 14, 1996 (14. 05. 96)

Date of mailing of the international search report

May 28, 1996 (28. 05. 96)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C07K 14/52, C07K 16/24, C12N 15/19, C12N 15/06, C12N 5/08, C12N 5/10, C12N 5/20, C12P 21/02, C12P 21/08, G01N 33/577

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C07K 14/52, C07K 16/24, C12N 15/19, C12N 15/06, C12N 5/08, C12N 5/10, C12N 5/20, C12P 21/02, C12P 21/08, G01N 33/577

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS PREVIEWS, CAS ONLINE, WPI, WPI/L

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|----------------------|
| A | Fawthrop, F.W. et al. "The effect of transforming growth factor beta on the plasminogen activator activity of normal human osteoblast-like cells and a human osteosarcoma cell line MG-63", J. Bone Miner. Res. [1992] 第7巻, 第12号, p. 1363-1371 | 1 - 96 1 - 96 |
| A | Fenton, A.J. et al. "Long-term culture of disaggregated rat osteoclasts inhibition of bone resorption and reduction of osteoclast-like cell number by calcitonin and PTHrP107-139", J. Cell Physiol. [1993] 第155巻, 第1号, p. 1-7 | |

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.05.96

国際調査報告の発送日 28.05.96

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齊藤 真由美

印

4 B

9 4 5 2

電話番号 03-3581-1101 内線 3449